基础研究 文章编号:0253-3626(2009)05-0542-05

siRNA 沉默 FAK 基因表达对乳腺癌 MCF-7 细胞生物学特性的影响

马 杰,王继见,李 洋
(重庆医科大学附属第二医院普外科,重庆 400010)

【摘 要】目的:研究 RNAi 干扰粘着斑激酶(Focal adhesion kinase,FAK)的表达及对人类乳腺癌细胞生物学特性的影响。方法:构建表达 FAK 基因 siRNA 的重组质粒 FAK-siRNA,在脂质体的介导下转染人人乳腺癌 MCF-7 细胞,荧光倒置显微镜下观察转染效率,应用 RT-PCR 和 Western blot 检测 FAK mRNA 和蛋白表达,流式细胞术分析细胞周期分布,体外实验测定肿瘤细胞穿透 matrigel 的能力。结果:成功转染 FAK-siRNA 后乳腺癌 MCF-7 细胞 FAK 基因的表达与阴性对照组、空白质粒转染组相比 FAK mRNA 和蛋白表达水平明显降低($P<0.05$),细胞增殖指数及侵袭力明显降低($P<0.01$)。结论:FAK-siRNA 能有效抑制人乳腺癌细胞 FAK 基因 mRNA 和蛋白的表达,降低细胞增殖能力及侵袭力。

作者介绍:马 杰(1981-),男,硕士,
研究方向:乳腺肿瘤。
通讯作者:王继见,男,教授,E-mail:Wangjj1963@163.com。

更利于喉癌种子增殖和向淋巴转移的"土壤"。从而其迁移性、侵袭性以及增殖能力增强,喉癌细胞向淋巴管定向迁移的渗透能力进一步增强,这样癌细胞更容易通过淋巴管转移至局部淋巴结并定居下来,形成转移灶,提示 CXCR4/VEGF-C 可能作为监测喉癌患者淋巴转移的参考指标。总之,CXCR4、VEGF-C 在喉癌组织中以及 SDF-1 在转移淋巴结组织中的高表达,且与喉癌的淋巴结转移密切相关,说明喉癌细胞中的 CXCR4/SDF-1 与VEGF-C 在促进喉癌的淋巴结转移方面存在一个或多个共同通路,但其具体的分子机制还不清楚,有待于进一步实验研究。由于肿瘤淋巴结转移是影响喉癌患者预后的独立因素,故 CXCR4-SDF-1-VEGF-C 高表达可能是判断喉癌是否发生转移的一个指标,并预示患者的预后,阻断这一生物学轴可能成为喉癌治疗的一个新途径。

参 考 文 献

[1] Kucia M,Jankowski K,Reca R,et al. CXCR4-SDF-1 signalling, locomotion, chemotaxis and adhesion[J]. J Mol Histol, 2004, 35(3): 233-245.

[2] He Y,Karpanen T,Alitalo K. Role of lymphangiogenic factors in tumor metastasis[J]. Biochimica et Biophysica Ata(BBA)-Reviews on Cancer, 2004, 1654(1): 3-12.

[3] Karpanen T,Makinen T. Regulation of lymphangiogenesis-from cell fate determination to vessel remodeling [J]. Exp Cell Res, 2006, 312(5): 575-583.

[4] Leung D W,Cachianes G,Kuang W J,et al. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen[J]. Science, 1989, 246 (4935): 1306-1309.

[5] Balkwill F. The significance of cancer cell expression of the chemokine receptor CXCR4[J]. Semin Cancer Biol, 2004, 14(3): 171-179.

[6] Salvucci O,Bouchard A,Baccarelli A,et al. The role of CXCR4 receptor expression in breast cancer: a large tissuemicroarray study[J]. Breast Cancer Res Treat, 2006, 97(3): 275-283.

[7] Yoon Y,Liang Z X,Zhang Y,et al. CXC chemokine receptor-4 antagonist blocks both growth of primary tumor and metastasis of head and neck cancer in xenograft mouse models[J]. Cancer Res, 2007, 67(15): 7518-7524.

[8] Muller A,Homey B,Soto H,et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis[J]. Nature, 2001, 410(6824): 50-56.

[9] Kim J. Chemokine receptor CXCR4 expression in patients with melanoma and colorectal cancer liver metastases and the association with disease outcome[J]. Annal Surg, 2006, 244(1): 113-120.

[10] 孙国华,朱永学,黄彩平. 趋化因子受体 CXCR4 在下咽鳞癌组织中的表达及其意义[J]. 中国癌症杂志, 2008, 18(6): 420-423.

[11] Jing Y P,Wu X H,Xing H Y,et al. Role of CXCL12 in metastasis of human ovarian cancer[J]. Chin Med J(Engl), 2007, 120(14): 1251-1255.

[12] Ottaiano A. Overexpression of both CXC chemokine receptor 4 and vascular endothelial growth factor proteins predicts early distant relapse in stageII-III colorectal cancer atients[J]. linCancer, 2006, 12(9): 2795.

[13] Zagzag D,Esencay M,Mendez O,et al. Hypoxia-and vascular endothelial growth factor-Induced stromal cell-derived factor-1 α /CXCR4 expression in glioblastomas[J]. Am J Pathol, 2008, 173(2): 545-560.

(责任编辑:冉明会)

【关键词】RNA 干扰;乳腺癌;粘着斑激酶;增殖;侵袭
【中国图书分类法分类号】R737.9 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-06-23

Effect of silencing FAK gene expression by siRNA on characteristics of human breast cancer MCF-7 cell line

MA Jie, et al

(*Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the effect of RNA interferenc(RNAi) on FAK gene expression and the biological characteristics of human breast cancer MCF-7. *Methods*: The constructed recombinant plasmid FAK-siRNA was transfected into human breast cancer MCF-7 cell using Lipofectamine™ 2000. The transfection efficiency was observed under fluorescence confocal microscope. Expression of FAK mRNA and protein were detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot. Distribution of cell cycle was assessed by flow cytometry. Cell penetrate matrigel capacity were determined by invitro experiment. *Results*: FAK-siRNA effectively inhibited FAK mRNA and protein expression ($P<0.05$). The proliferation index and the invasion capability of MCF-7 cells were effectively degraded ($P<0.01$). *Conclusion*: FAK-siRNA inhibits the expression of FAK mRNA and protein, degrades the proliferation and the invasion capability of human breast cancer cell.

【Key words】RNA interference; Breast cancer; Focal adhesion kinase; Proliferation; Tumor invasion

粘着斑激酶(Focal adhesion kinase, FAK)是一种非受体型胞浆酪氨酸激酶,能通过多种信号通路在细胞周期调控、粘附、迁移、生存等多方面发挥重要的作用[1,2]。研究发现 FAK 在多种上皮及间质来源的肿瘤中高表达或过度激活[3,4],其高表达可能是许多肿瘤获得侵袭转移潜能的共同途径,FAK 已经成为新的肿瘤治疗靶点[5]。RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术是近年来新发展的一项基因沉默技术,它通过一些小干扰 RNA(Small interfering RNA, siRNA)特异性结合靶 mRNA 序列促使其 mRNA 降解,从而成为抑制细胞某一基因表达的有利工具[6]。本实验旨在应用 RNAi 技术探讨 FAK 基因在人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖及侵袭能力中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 人乳腺癌 MCF-7 细胞株由重庆医科大学基础医学研究所提供。

1.1.2 主要试剂 RPMI1640、小牛血清由重庆医科大学基础医学研究所提供;RNA 提取试剂盒购自上海华舜生物工程有限公司;脂质体转染剂 Lipofectamine™ 2000 购自上海 invitrogen 公司;G418、DNA marker 购自天根生化科技有限公司;RT-PCR 试剂盒购自大连宝生物公司;PCR 引物及内参引物由上海生物工程有限公司合成,鼠抗人 FAK 单克隆抗体(FAK:H-1)及鼠抗人 β-actin 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司,羊抗鼠 IgG 购自美国 Pierce 公司。

1.2 方法

1.2.1 设计合成 siRNA 干扰序列 参考 GeneBank 人粘着斑激酶 FAK mRNA(GI:439874),按 siRNA 设计原则,通过 ambion 公司的 siRNA 设计工具,设计出阻断 FAK mRNA 的特异性 siRNA 序列一对,两端分别加入酶切位点 *BamH* Ⅰ和 *Hind*Ⅲ,3'端酶切位点之前加入终止信号 TTTT,引物结构:*BamH* Ⅰ-Sense-Loop-Antisense- 终止信号 -*Sal* Ⅰ *Hind*Ⅲ。正义链:5'- GATCCCCACCTGGGCCAGTATTATTTCA AGACGA TAATACTGGCCCAGGTGGTTTTTTGTCGACA - 3',反义链:3' -GCGGTGGACCCGGTCATAATAAAGTTCTGCTATTATGACC GGGTCCACCAAAAAACAGCTGTTCGA -5';由武汉晶赛生物工程技术有限公司合成重组质粒。

1.2.2 重组质粒鉴定 将构建好的质粒转化大肠杆菌 DH5α,用含卡那霉素的平板筛选,挑取阳性菌落提取质粒酶切鉴定并送重庆医科大学感染性疾病分子生物学重点实验室测序,并将重组质粒命名为 FAK-siRNA,测序结果提示质粒构建成功。

1.2.3 实验分组 将实验组分 3 组:以未转染质粒为阴性对照组,转染空白质粒为空白质粒转染组,转染 FAK-siRNA 重组质粒为干扰组。

1.2.4 细胞培养 细胞株复苏后接种于含 10%小牛血清的 RPMI1640 培养液中,置于 37℃、5% CO_2 培养箱中培养,用 0.25%胰酶消化传代分瓶,取对数生长期细胞用于转染。

1.2.5 转染 MCF-7 细胞经胰酶消化后,铺于 6 孔板,使其生长密度达到 1×10^5 个/孔,无抗生素 DMEM 培养 24 h,细胞 75%以上铺满时转染(操作按照 Lipofectamine™ 2000 试剂盒说明进行)。5% CO_2、37℃条件下,4 h 后换成 10%胎牛血清的 1640 培养液。G418(200 μg/ml)筛选 24 h 后观察荧光。

细胞核染色后在荧光共聚焦显微镜下摄片并与可视光同视野下照片对比观察转染效率。

1.2.6 RT-PCR 测定 FAK mRNA 的表达 按 RNA 提取试剂盒说明提取 3 组细胞 mRNA，将提取的 mRNA 凝胶电泳鉴定后，进行 RT 反应。条件：37℃ 15 min，85℃ 5 s。将 cDNA -20℃保存。按 PCR 试剂盒说明进行 PCR 反应。FAK 引物序列（F:5'-ACGGCACCATCCCTAACC-3'），（R:5'-TCTCACGCTGTCCGAACT-3'），扩增产物片断为 408 bp。以 GAPDH 为内参，引物序列（F:5'-GGAGTGGGTGTCGCTGTTGA-3'），（R:5'-TGGACCTGACCTGCCGTCTA-3'），扩增片段长度 149 bp。条件：94℃ 5 min，94℃变性 1 min，58℃退火 30 s，72℃延伸 1 min，共进行 35 个循环，最后 72℃延伸 5 min。取 5 μl PCR 产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳，紫外照相并进行扫描分析，以 FAK 与 GAPDH 平均光密度值的比值来半定量分析 FAK mRNA 的表达水平。

1.2.7 Western blot 检测 FAK 蛋白表达 将 MCF-7 细胞用裂解液提取蛋白，以蛋白提取液样品做 SDS-PAGE 电泳后转膜，封闭，转至 PVDG 膜，鼠抗人 FAK 单克隆抗体及小鼠抗人 β-actin 抗体，4℃冰箱过夜；0.01 mol/L PBST 洗涤 3 次，每次 5 min；用辣根过氧化物酶（HRP）标记的羊抗鼠 IgG 二抗室温孵育 1 h，0.01 mol/L PBST 洗涤 4 次，每次 5 min，DAB 显色。结果用美国 Quantity One 4.6.0.36 软件分析，所得灰度值与 β-actin 蛋白两者对应条带的灰度值之比分析蛋白表达。

1.2.8 流式细胞技术分析细胞周期分布 对数生长期的细胞用胰酶消化传代，6 孔板培养，加入无血清 RPMI1640 培养基培养 24 h。后更换含 10%小牛血清的 RPMI1640 培养液，继续培养至 72 h，胰酶消化，冰 PBS 洗涤 2 次，1 000 r/min 离心 5 min。弃上清，加入 4℃预冷的 75%乙醇，4℃过夜。取细胞悬液，PBS 洗涤，1 000 r/min 离心 5 min，弃上清，送检。细胞周期分析软件 MultiCycle 分析得到 DNA 指数（DNA index，DI）细胞周期数值，并以下列公式计算细胞增殖指数 Proliferation index，PI）：$PI=(S+G_2/M)/(G_1+S+G_2/M)\times 100\%$。

1.2.9 肿瘤的体外侵袭实验 将 matrigel 胶按 1:3 PBS 稀释后均匀地铺在 8 μm PCF 细胞小室膜上成胶 30 min，实验前 30 min 再次成胶。将小室置于 24 孔板内，在板内加入含有肿瘤细胞趋化因子的小鼠成纤维细胞 NIH-3T3 培养基上清液和 RPMI1640 培养基 400 μl 比例为 1:3，细胞计数池计数各组细胞加入到小室内，细胞数目约为 1×10^5 个，并加入培养基 100 μl，37℃、5 %CO_2 孵育。48 h 后取出小室，撕取小室底层膜，用棉签擦去上层细胞，PBS 冲洗小室膜 3 次，95%乙醇固定 5 min，台盼蓝染色，倒置显微镜下计算 3 组各 5 个视野的肿瘤细胞数。

1.2.10 统计学处理 所有检测实验均重复 3 次，数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，使用 SPSS13.0 统计软件，组间对照数据采用 t 检验。

2 结 果

2.1 乳腺癌 MCF-7 细胞株目的基因 siRNA 的转染效率观察

质粒中含有绿色荧光蛋白 EGFP，通过与可见光下同组细胞照片对比观察转染效率。发现当重组质粒与脂质体之比为 1:4（μg/μl）时，转染效率较高。如图 1 所示。24 h 后荧光倒置显微镜观察，细胞转染效率达 60%以上，荧光表达较强。

2.2 半定量 RT-PCR 结果

FAK 和 GAPDH 经 PCR 扩增，结果显示片段大小与所设计的完全一致，分别为 408 bp 和 149 bp。如图 2 所示。阴性对照组 MCF-7 细胞中 FAK mRNA 表达量（0.972±0.008）与空白质粒转染组（0.969±0.005）相比差异无统计学意义（$P>0.05$），与干扰组（0.371±0.002）相比有显著性差异（$P<0.05$）。

2.3 Western blot 结果

经 Western blot 检测分析表明，内参为均一显影的条带，FAK 显影条带密度不同。如图 3 所示。FAK 与与 β-actin 蛋白两者对应条带的灰度值之比分析，阴性对照组（0.53±0.03）与干扰组（0.31±0.01）比差异有显著性（$P<0.05$），和空白质粒组（0.58±0.03）相比差异无统计学意义（$P>0.05$）。

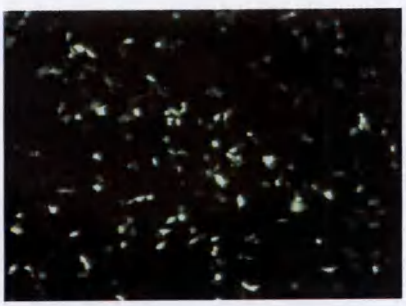
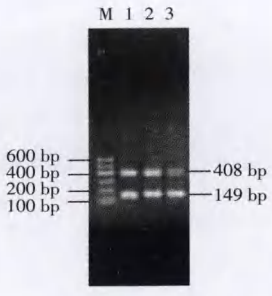
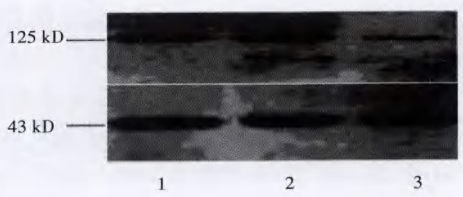


图 1 乳腺癌 MCF-7 细胞株转染图（×200）



M. DL600 Marker；1. 阴性对照组；2. 空白质粒转染组；3. 干扰组

图 2 RT-PCR 结果



43 kD：β-actin；125 kD：FAK 蛋白

1. 阴性对照组；2. 空白质粒转染组；3. 干扰组

图 3 Western blot 结果

2.4 流式细胞仪检测细胞周期分布的改变

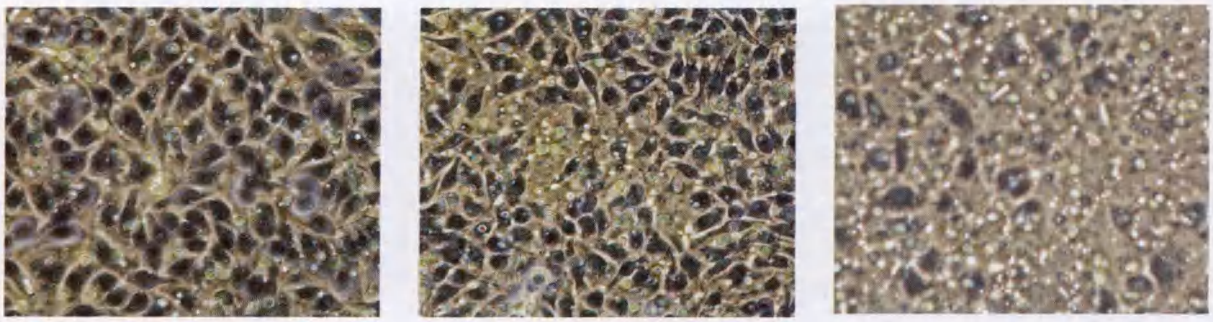
各组细胞经流式细胞仪检测细胞周期分布结果如表 1 所示，干扰组 G_1 期细胞比例显著增高，G_2 期和 S 期细胞比例降低，细胞的 PI 明显降低。阴性对照组 PI(38.21±0.56)与空白质粒转染组(37.96±0.60)相比差异无统计学意义($P>0.05$)，与干扰组(25.89±0.26)相比有显著性差异($P<0.01$)。

2.5 Transwell 细胞小室检测细胞侵袭力的改变

转染 48 h 后，MCF-7 细胞穿膜细胞数阴性对照组(125.67±2.52)与空白质粒转染组(124.33±1.53)相比差异无统计学意义($P>0.05$)，而与干扰组细胞数(30.33±1.53)相比有显著性差异 ($P<0.01$)。见图 4。

表 1 流式细胞仪检测细胞周期分布结果

组别	G_1 期(%)	G_2/M 期(%)	S 期(%)	PI(增值指数)
阴性对照组	61.79 ± 0.56	12.43 ± 0.25	25.78 ± 0.64	38.21 ± 0.56
空白质粒组	62.04 ± 0.60	15.52 ± 1.08	22.45 ± 0.64	37.96 ± 0.60
干扰组	74.11 ± 0.26	11.47 ± 0.73	14.42 ± 0.88	25.89 ± 0.26



A. 阴性对照组　　B. 空白质粒转染组　　C. 干扰组

图 4 Transwell 细胞小室细胞穿膜情况(台盼蓝染色×200)

3 讨 论

3.1 RNAi 与 FAK 基因表达

自 1998 年 Fire 等[7]学者提出 RNA 干扰以来，RNAi 很快就成为科学领域的研究热点之一。RNAi 通过 *RNase* Ⅲ 内切酶 Dicer 的作用产生有活性的小的 21~23 nt 干扰性 RNA，介导目的基因互补同源 mRNA 的特异性降解，从而导致目的基因的沉默，又称转录后基因沉默(Post-transcriptional gene silencing，PTGS)。

RNAi 技术成功的关键之处在于选择合适靶基因。FAK 是一种分子量为 125 kD 的非受体型胞浆酪氨酸激酶，在多种上皮及间质来源的肿瘤中高表达或过度激活，在正常组织仅有微量表达。肿瘤细胞在整合素介导下与细胞外基质(Extracelluar matrix，ECM)粘附是细胞生长、增殖的必要条件，研究发现，FAK 在整合素介导的信号转导中起关键作用。FAK 被激活后表现为磷酸化，可进一步活化SRC、磷脂酰肌醇-3 激酶(Phosphatidyl Inositol-3 kinase，PI-3K)等蛋白，对细胞的粘附、增殖、迁移等进行调节。因此，FAK 被认为是整合素依赖性信号传导通路的基础分子，有胞内第一信号之称，日益受到关注[8,9]，其高表达可能是许多肿瘤获得侵袭转移潜能的共同途径，FAK 已经成为新的肿瘤治疗靶点。阻断其表达或其介导的信号转导通路将有可能为抗肿瘤治疗提供一些新的思路。因此，本研究选取 FAK 为靶基因，以期能为肿瘤的基因治疗提供实验依据。

本研究利用 RNAi 方法设计了针对靶基因 FAK 的特异干扰序列，并构建重组质粒表达载体，应用脂质体介导法转染至乳腺癌 MCF-7 细胞株当中。结果通过 RT-PCR 分析发现，在转染的 MCF-7 细胞中，与阴性对照组相比干扰组能显著降低 FAK mRNA 的表达($P<0.05$)，而空白质粒对 FAK mRNA 的抑制效果不显著($P>0.05$)，Western blot 印迹方法检测表明，转染 FAK-siRNA 重组质粒能明显降低 FAK 蛋白的表达($P<0.05$)。结果表明构建的重组质粒 FAK-siRNA 能有效的抑制人乳腺癌 MCF-7 细胞中 FAK mRNA 和蛋白表达，使其表达水平显著降

低,为 RNAi 技术应用于肿瘤治疗奠定实验基础。

3.2 FAK 与肿瘤细胞增殖能力

FAK 在多种上皮及间质来源的肿瘤中高表达或过度激活,具有促进肿瘤细胞增殖的作用,其促细胞增殖作用主要是通过调控细胞周期实现的。目前认为,3 条以 FAK 为中心的信号转导通路与细胞周期调控密切相关,其共同的终末环节是在转录水平上诱导周期素 D1(cyclin D1)和 CDK 的高表达,抑制 p27 活性,促进肿瘤细胞 DNA 合成和加快 G_1/S 期的转换[10]。

本研究运用流式细胞技术,研究 FAK siRNA 对人乳腺癌 MCF-7 细胞增殖的影响。流式细胞仪检测细胞周期的结果显示干扰组 G_1 期比率明显升高,增殖指数(25.89%±0.26%)下降,与阴性对照组相比差异有显著性(P<0.01)。结果提示 FAK 基因的抑制可能影响肿瘤内 DNA 的复制和合成,抑制细胞正常分裂,使细胞在 G_1 期堆积,最终结果是抑制细胞的增殖能力。

3.3 FAK 与肿瘤细胞侵袭能力

肿瘤细胞具有侵袭的特征,在侵袭过程中脱离原发部位与基底膜粘附,分泌降解酶降解周围组织,移动并穿过 ECM 导致扩散与转移。肿瘤的侵袭和转移是一个多因素参与的极其复杂的过程,是导致肿瘤病人治疗失败和死亡的主要原因。因此,研究和阐明肿瘤侵袭和转移的机制,可为开发抗肿瘤靶向药物及基因治疗提供理论和实验依据。

Weiner 等[11]认为 85%的侵袭性肿瘤如结肠癌、甲状腺癌等 FAK 表达升高,而伴有转移的肿瘤中 100%FAK 升高,说明 FAK 高表达涉及肿瘤细胞的侵袭和转移。有研究显示 FAK 可以通过调控蛋白裂解酶降解周围基质,从而达到侵袭作用[12]。FAK 在许多高侵袭、高转移的肿瘤组织中表达增加,在正常组织仅有微量表达的事实提示我们 FAK 过表达可能是肿瘤细胞获得侵袭与转移潜能的一个共同通路,可能成为判断肿瘤侵袭及预后的标志。

本研究涉及的体外实验很好的反映了肿瘤侵袭转移的全过程-粘附、降解、移动,因而细胞穿越 Matrigel 的能力能够反映细胞的侵袭能力。结果显示转染了 FAK-siRNA 重组质粒的细胞组穿膜细胞数目(30.33±1.53)显著减少,阴性对照组(125.67±2.52)与空白质粒转染组(124.33±1.53)相比差异无统计学意义(P>0.05),而与干扰组相比有显著性差异(P<0.01)。结果表明 siRNA 沉默 FAK 表达后肿瘤细胞侵袭能力下降。我们分析可能与 siRNA 沉默 FAK 表达后,肿瘤细胞粘附、降解周围组织及迁移运动能力的减弱有关。

综上所述,FAK 的表达与乳腺癌细胞的增殖、侵袭能力密切相关,利用 RNAi 技术能够降低 FAK 基因的表达,并能有效的抑制乳腺癌细胞的增殖及侵袭能力,为质粒介导的 RNAi 技术应用于乳腺癌的基因治疗提供一定的实验依据。

参 考 文 献

[1] Cance W G, Harris J E, Iacocca M V, et al. Immunohistochemical analyses of focal adhesionkinase expression in benign and malignant human breast and colon tissues:correlation withpreinvasive and invasive phenotypes[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(6): 2417-2423.

[2] Hsia D A, Mitra S K, Hauck C R, et al. Differential regulation of cell motility and invasionby FAK[J]. Cell Biol, 2003, 160(5): 753-767.

[3] Siesser P M, Hanks S K. The signaling and biological implications of FAKoverexpressi-onincancer[J]. ClinCancerRes, 2006, 12(11): 3233-3237.

[4] Owens L V, Xu L, Craven R J, et al. Overexpression of the focal adhesion kinase (p125FAK) in invasive human tumors[J]. Cancer Res, 1995, 55(13): 2752-2755.

[5] Madan R, Smolkin M B. Focal adhesion proteins as markers of malignanttransformation and prognostic indicators in breast carcinoma[J]. Hum Pathol, 2006, 37(1): 9-15.

[6] 黄 环, 吴永忠, 李少林, 等. RNA 干扰 EGFR 基因家族真核表达载体的构建[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33(4): 399-402.

[7] Fire A, Xu S, Montgomery M K, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in Caenorhabditis elegans[J]. Nature, 1998, 391(6669): 806-811.

[8] Birukov K G, Leitinger N, Bochkov V N, et al. Signal transduction pathways activated in human pulmonary endothelial cells by OxPAPC, a bioactive component of oxidized lipoproteins[J]. Microvasc Res, 2004, 67(1): 18-28.

[9] Thamilselvan V, Basson M D. Pressure activates colon cancer cell adhesion by inside-outfocal adhesion complex and actin cytoskeletal signaling[J]. Gastroenterology, 2004, 126(1): 8-18.

[10] Ding Q, Grammer J R, Nelson M A, et al. $p27^{Kip1}$ and cyclin D1 are necessary for focaladhesion kinase regulation of cell cycle progression in glioblastoma cells propagated in vi-tro and in vivo in the scid mouse brain [J]. J Biol Chem, 2005, 280(8): 6802-6815.

[11] Weiner T M, Liu E T, Craven R J, et al. Expression of focal adhesion kinase gene and invasive cancer[J]. Lancet, 1993, 342(8878): 1024-1025.

[12] Wang H B, Dembo M, Hanks S K, et al. Focal adhesion kinase is involved in mechanos-ensing during fibroblast migration[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(20): 11295-11300.

(责任编辑:冉明会)