

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.18.010

表柔比星化疗对乳腺癌转移潜能的影响*

杨 桐 克 桢 或 覃君慧 梁 媛 王瑞安[△]

(第四军医大学基础部病理学与病理生理学教研室 陕西 西安 710032)

摘要 目的:比较乳腺癌细胞经过表柔比星处理前后的生物学行为,探讨表柔比星化疗对乳腺癌转移潜能的影响及机制。**方法:**人乳腺癌细胞 MCF-7 和 MDA-MB-231 分别给予正常培养和表柔比星 6 小时处理,通过划痕实验和 transwell 实验比较两组细胞迁移和侵袭能力的差别。MCF-7 细胞经过表柔比星处理不同时间后,通过 real-time PCR 分析细胞中转移相关蛋白 1(Metastasis Associated Protein 1, MTA1)表达水平的变化。建立小鼠 4T1 乳腺癌模型,观察表柔比星化疗对小鼠肺表面乳腺癌转移灶的数量的影响。**结果:**划痕实验中,处理组 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞 24 小时内平均划痕愈合距离均显著长于对照组细胞($P < 0.05$);transwell 实验中,处理组 MDA-MB-231 细胞 24 小时内穿膜细胞数显著多于对照组细胞($P < 0.01$),MCF-7 细胞本身侵袭性低难以穿膜;real-time PCR 结果显示,表柔比星处理使 MCF-7 细胞中 MTA1 转录水平出现显著上调($P < 0.05$);动物实验结果显示,处理组小鼠肺表面转移灶数量显著多于对照组($P < 0.01$)。**结论:**表柔比星处理可以在体内和体外增强乳腺癌细胞的转移潜能,这一改变可能与其诱导 MTA1 的表达有关。

关键词:表柔比星;化疗;乳腺癌;转移;转移相关蛋白 1

中图分类号:R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)18-3438-05

Effect of Epirubicin Chemotherapy on Metastatic Potential of Breast Cancer*

YANG Tong, KE Zhen-yu, QIN Jun-hui, LIANG Yuan, WANG Rui-an[△]

(Department of Pathology, School of Basic Medicine, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of epirubicin chemotherapy on metastatic potential of breast cancer and its possible mechanisms by comparison of the biological behaviors of epirubicin pre-treatment breast cancer cells with untreated cells. **Methods:** Human breast cancer MCF-7 and MDA-MB-231 cells were respectively treated with epirubicin for 6 hours or kept in normal culture medium. The migration and invasion capacity of these differently treated cells were assessed by wound-healing assays and transwell assays. Real-time PCR was used to analyze the alteration of mRNA levels of metastasis associated protein 1 (MTA1) in MCF-7 cells treated with epirubicin for different periods of time. Mouse 4T1 breast cancer model was established to observe the effect of epirubicin chemotherapy on the occurrence of surface lung metastases. **Results:** In the wound-healing assays, cells treated with epirubicin showed greater wound closure between 0 and 24 hours than untreated cells in both cell lines ($P < 0.05$). In the transwell assays, epirubicin treated MDA-MB-231 cells showed significant increase ($P < 0.01$) in the numbers of cells invading the Matrigel-coated membrane compared with untreated cells, but the difference in MCF-7 cells was not significant, probably due to their innate low invasive capacity. Real-time PCR showed that epirubicin treatment led to a significant increase ($P < 0.05$) in the expression of MTA1 mRNA in MCF-7 cells. In tumor-bearing mice, more surface lung metastases were observed in treated mice than untreated ones ($P < 0.01$). **Conclusions:** Epirubicin treatment can promote metastasis of breast cancer cells both in vitro and in vivo, and its stimulation of MTA1 is a possible mechanism.

Key words: Epirubicin; Chemotherapy; Breast cancer; Metastasis; MTA1

Chinese Library Classification(CLC): R737.9 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2015)18-3438-05

前言

化疗作为常规疗法,多年来广泛应用于乳腺癌临床治疗一线,新的药物和治疗方案层出不穷,但乳腺癌治疗后的复发和转移始终是临床肿瘤医师面临的一道难题。随着研究的深入,人们开始认识到,化疗可能具有促进肿瘤转移的"反作用"^[1]。

越来越多的研究报道了化疗后肿瘤转移能力增强的现象^[2-5],而关于化疗对肿瘤转移的影响,至今没有一个明确的结论。转移相关蛋白 1(Metastasis Associated Protein 1, MTA1)是一个与乳腺癌转移高度相关的重要分子,其表达水平与乳腺癌患者术后无病生存期呈高度负相关^[6],既往研究发现 MTA1 的过表达可以促进上皮间质转化^[7]、诱导肿瘤血管生成^[8]、上调基质金属蛋

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(30870923)

作者简介:杨桐(1988-),男,硕士研究生,主要研究方向:肿瘤发生理论, E-mail: yangtongpla@163.com

△ 通讯作者:王瑞安,电话:029-84779173, E-mail: wangra@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2015-02-02 接受日期:2015-02-28)

白酶 9[®]表达,通过多种途径在乳腺癌转移中发挥重要作用。但 MTA1 在化疗后表达是否有改变,及这种改变对乳腺癌转移能力的影响,在此前的研究中并未得到重视。本研究通过体外实验观察了表柔比星化疗对人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 和 MCF-7 迁移和侵袭能力的影响,通过建立小鼠 4T1 乳腺癌模型在动物体内观察了表柔比星化疗对乳腺癌肺转移的影响,并检测了表柔比星处理后体外培养细胞中 MTA1 的表达水平的改变,探讨表柔比星化疗前后乳腺癌转移能力的改变,以及 MTA1 在其中发挥作用的可能性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人乳腺癌 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞系以及小鼠乳腺癌 4T1 细胞系均购自中国医学科学院肿瘤医院研究所。雌性 BALB/c 小鼠由第四军医大学实验动物中心提供。DMEM 培养基、RPMI-1640 培养基和 L-15 培养基均购自美国 Hyclone 公司。注射用盐酸表柔比星(艾达生,10 mg,生产批号 131016)为浙江海正药业股份有限公司产品。Boyden 小室(货号 3422)和 Matrigel 基质胶(货号 356234)均购自美国 Corning 公司。人源性 MTA1 和 β -actin 特异性引物由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成。RNA 提取试剂 RNAiso Plus(D9108A)、反转录试剂盒 PrimeScript[®] RT Master Mix Perfect Real Time(RR036A)以及实时定量 PCR 试剂盒 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II(RR820A)均购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.2 体外细胞实验

1.2.1 细胞培养 人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞用 L-15 培养基培养,MCF-7 细胞用 DMEM 培养基培养,小鼠乳腺癌 4T1 细胞用 RPMI-1640 培养基培养。所用培养基均含有 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素。MCF-7 细胞和 4T1 细胞在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 环境中培养,MDA-MB-231 细胞在 37 $^{\circ}$ C、无 CO₂ 环境中培养。

1.2.2 细胞划痕实验检测细胞迁移 用 marker 笔在六孔板背后以 0.5 cm 为间隔平行于板的长轴划线,每孔至少划 5 条线。在孔中加入 5×10^5 个细胞,待细胞密度达到 90%左右时,处理组细胞更换成含有 2 μ M 表柔比星的培养基,对照组细胞继续用普通培养基培养。6 h 后,用 200 μ L 枪头垂直于孔板背后的横线划痕,PBS 清洗细胞三次,加入无血清培养基,于培养箱中培养。按 0、6、12、24 h 取样拍照,比较两组细胞划痕愈合的距离,实验重复三次,取平均值。

1.2.3 Transwell 实验检测细胞侵袭 Boyden 小室直径 6.5 mm,滤膜孔径 8 μ m,与 24 孔板配合使用。Matrigel 基质胶 4 $^{\circ}$ C 融化,在冰上与预冷的无血清培养基按 1:8 的比例混合稀释,铺于 transwell 小室滤膜的上室面,每孔体积 50 μ L,37 $^{\circ}$ C 保温 2 h。处理组细胞接受 2 μ M 表柔比星预处理 6h,对照组细胞正常培养,两组细胞分别用胰蛋白酶消化并用无血清培养基调整成 2.5×10^5 个/mL 密度的单细胞悬液。上室加入 200 μ L 细胞悬液,下室加入 500 μ L 完全培养基,37 $^{\circ}$ C 培养 24 h。24 h 后取出小室,PBS 淋洗,以棉签轻轻擦去上室面的基质胶和细胞,95%酒精固定 5 min,0.4%结晶紫染色 30 min,镜下计数穿膜细胞,每个样本随机计数 6 个视野,取平均值。实验重复 3 次。

1.2.4 Real-time PCR 检测化疗处理对 MTA1 转录水平的影响 MCF-7 细胞消化成单细胞悬液,以 5×10^5 个/孔的密度加入六孔板中,于培养箱中培养,待细胞汇合度达到 80%-90%左右时,对细胞进行化疗处理。每种细胞设置 1 孔不加表柔比星处理的正常对照组和 3 孔处理组,分别接受 2 μ M 表柔比星处理 6 h、12 h 和 24 h。处理过后,用 RNAiso Plus 提取细胞总 RNA,具体步骤按照 Takara RNAiso Plus 说明书操作。提取的 RNA 经过定量后,逆转录成 cDNA,应用 SYBR 荧光定量 PCR 方法测定 mRNA 的表达。MTA1 引物序列:上游引物 5'-TGCT-CAACGGGAAGTCCTACC-3',下游引物 5'-GGGCATGTGAACACGTCACC-3'。内参 β -actin 引物序列:上游引物 5'-GGACTTCGAGCAAGAGATGG-3',下游引物 5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3'。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示 MTA1 mRNA 的相对表达量, $\Delta\Delta Ct$ = 处理组($Ct_{MTA1} - Ct_{\beta-actin}$) - 对照组($Ct_{MTA1} - Ct_{\beta-actin}$)。

1.3 在体动物实验

1.3.1 4T1 小鼠乳腺癌模型建立 参考 Pulaski 等^[10]报道的关于小鼠 4T1 乳腺癌模型的文献,将培养的 4T1 细胞消化成单细胞悬液,用 RPMI-1640 培养基调整细胞浓度为 2×10^6 /mL,用 1 mL 注射器吸取细胞悬液,注射于 8 周龄雌性 BALB/c 小鼠左侧第四乳腺脂肪垫内,共注射 12 只小鼠,每只小鼠注射 0.1 mL,即 2×10^5 个细胞。接种后正常饲养,2 周内能够形成可触及的乳腺癌瘤体。

1.3.2 乳腺癌模型小鼠化疗处理 12 只小鼠分为表柔比星处理组和对照组,每组 6 只。处理组小鼠从第三周开始每周进行化疗,表柔比星注射液腹腔注射,化疗剂量为 3 mg/kg,每周一次。对照组小鼠注射在相同时间注射生理盐水。第三次化疗结束后 3 天,脱颈处死小鼠,完整剥离肿瘤,测量肿瘤体积大小;标本 10%甲醛溶液固定 48 h,常规石蜡包埋,4 μ m 厚连续切片,行 HE 染色,观察并证实肿瘤;取小鼠肺脏 Bouin 氏液固定,体视显微镜下观察并计数肺部肿瘤转移灶的数目。

1.4 统计学分析

实验数据计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析,两组间比较采用 student-t 检验,多组数据比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 Dunnett-t 检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 表柔比星处理对 MDA-MB-231 细胞和 MCF-7 细胞迁移能力的影响

划痕实验结果显示,100 倍光镜视野下,MDA-MB-231 细胞对照组 24h 细胞迁移的平均距离为 2.00 ± 0.28 cm,处理组细胞为 3.23 ± 0.20 cm ($P = 0.0237$);MCF-7 细胞对照组 24 h 细胞迁移的平均距离为 1.22 ± 0.35 cm,处理组细胞为 2.938 ± 0.21 cm ($P = 0.0140$)。这表明表柔比星处理能够增强乳腺癌细胞的迁移能力(图 1)。

2.2 表柔比星处理对 MDA-MB-231 细胞和 MCF-7 细胞侵袭能力的影响

Transwell 实验结果显示,在接种 24 h 后,对照组和处理组 MDA-MB-231 细胞穿过 Matrigel 基质胶的细胞数分别为每 200 倍光镜视野下 26.67 ± 2.03 个和 42.67 ± 1.45 个 ($P =$

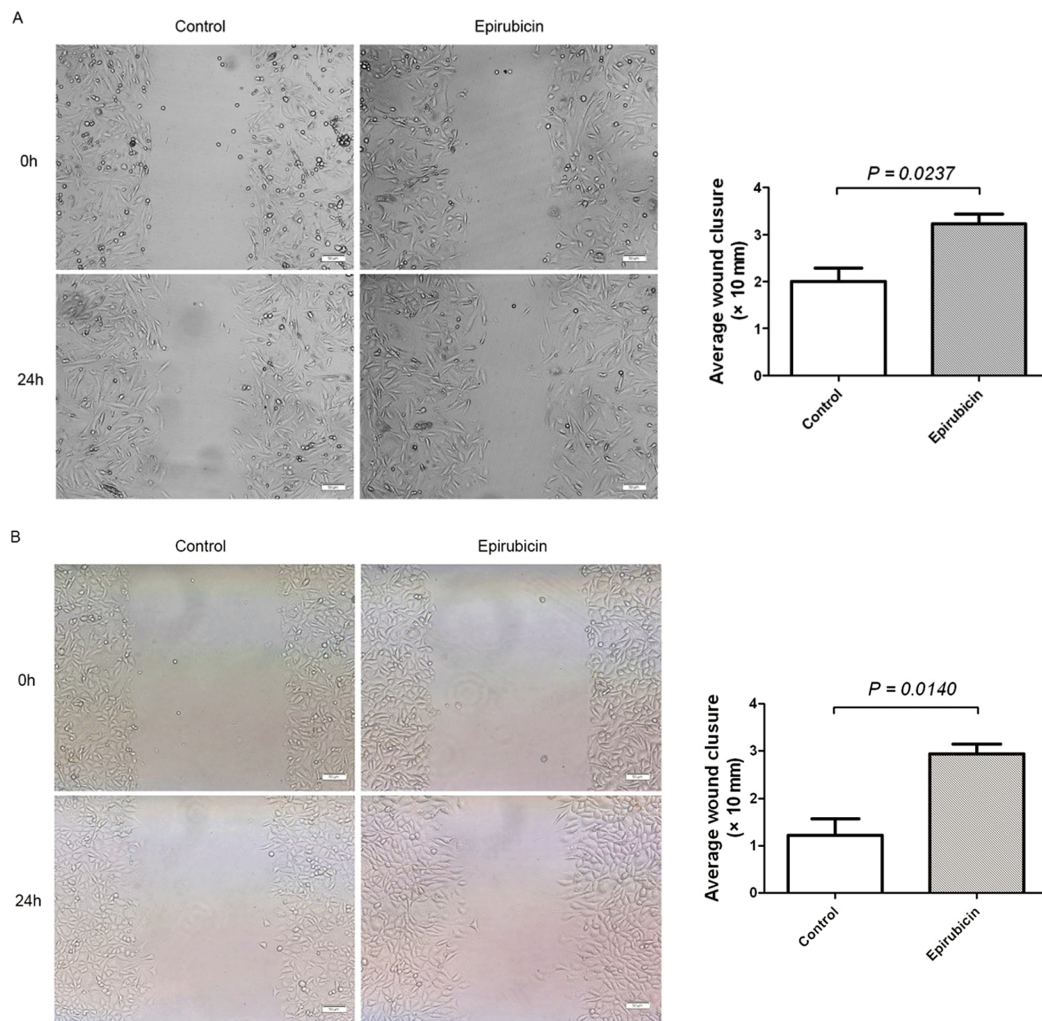


图 1 划痕实验显示表柔比星处理增强了 MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞体外迁移能力($\times 100$)

Fig. 1 Breast cancer cells treated with epirubicin showed enhanced migration capacity in wound-healing assay ($\times 100$)

Note: A: MDA-MB-231 cell; B: MCF-7 cell.

0.0030), 表明表柔比星处理过的 MDA-MB-231 细胞表现出了更强的侵袭性。而 MCF-7 细胞对照组与处理组细胞均难以穿过 Matrigel 基质胶到达膜的下室面, 视野下很少能见到成功穿

膜的 MCF-7 细胞, 考虑与 MCF-7 细胞本身极低的侵袭性有关 (图 2)。

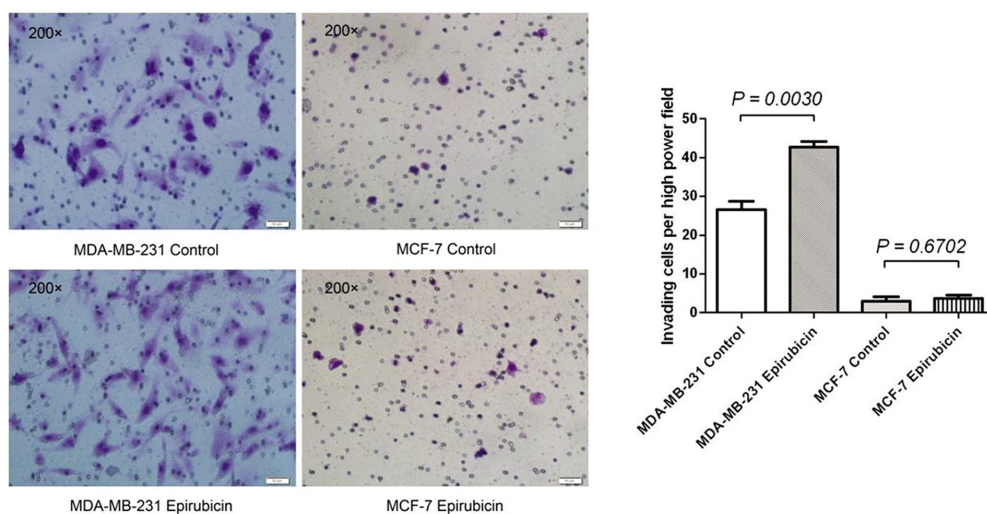


图 2 Transwell 实验显示表柔比星处理增强了 MDA-MB-231 细胞体外迁移能力($\times 200$)

Fig. 2 MDA-MB-231 cells treated with epirubicin showed enhanced migration capacity in transwell assay ($\times 200$)

Note: No significant difference was observed in MCF-7 cells. This is probably due to the innate extremely low invasive capacity of MCF-7 cells.

2.3 表柔比星处理对 MCF-7 细胞 MTA1 表达水平的影响

Real-time PCR 结果显示, MCF-7 细胞 6 h、12 h、24 h 三个处理组 MTA1 mRNA 水平分别上升至对照组的 2.34 倍、3.31

倍、2.92 倍($P = 0.0275$), 其中 12 h 组和 24 h 组与对照组相比有统计学意义 ($P < 0.05$), 表明表柔比星处理后 MCF-7 细胞中 MTA1 的转录水平有了明显上调(图 3)。

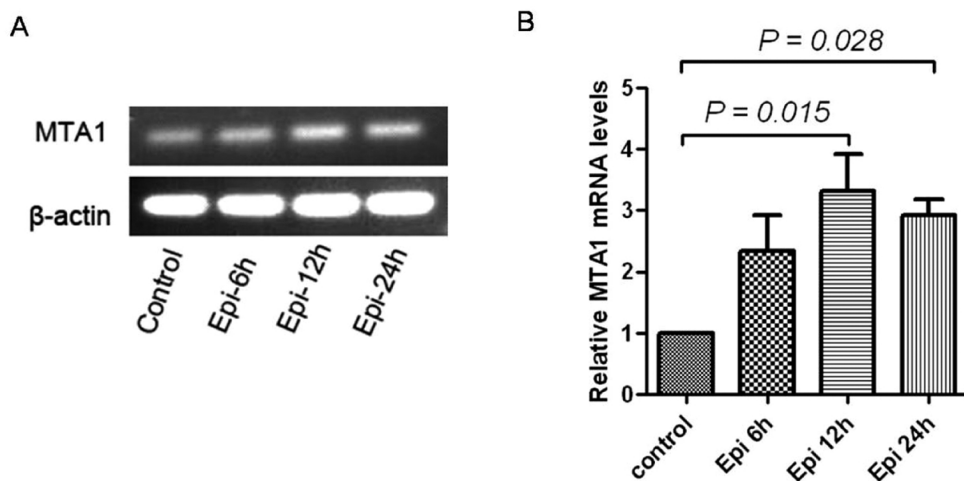


图 3 Real-time PCR 结果显示表柔比星处理使 MCF-7 细胞中 MTA1 mRNA 水平有了显著提高

Fig. 3 Real-time PCR showed that epirubicin treatment led to a significant increase in the expression of MTA1 mRNA in MCF-7 cells

Note: A: RT-PCR; B: Relative MTA1 mRNA levels detected by real-time PCR; Epi: Epirubicin.

2.4 表柔比星处理对 4T1 乳腺癌肺转移的影响

乳腺癌模型小鼠肺组织固定后体视显微镜下计数转移灶数量, 结果显示, 对照组小鼠平均肺表面转移灶数量为 $5.67 \pm$

1.98 个, 化疗组小鼠为 17.33 ± 1.82 个($P = 0.0015$), 表明表柔比星化疗刺激了乳腺癌向肺部的转移(图 4)。

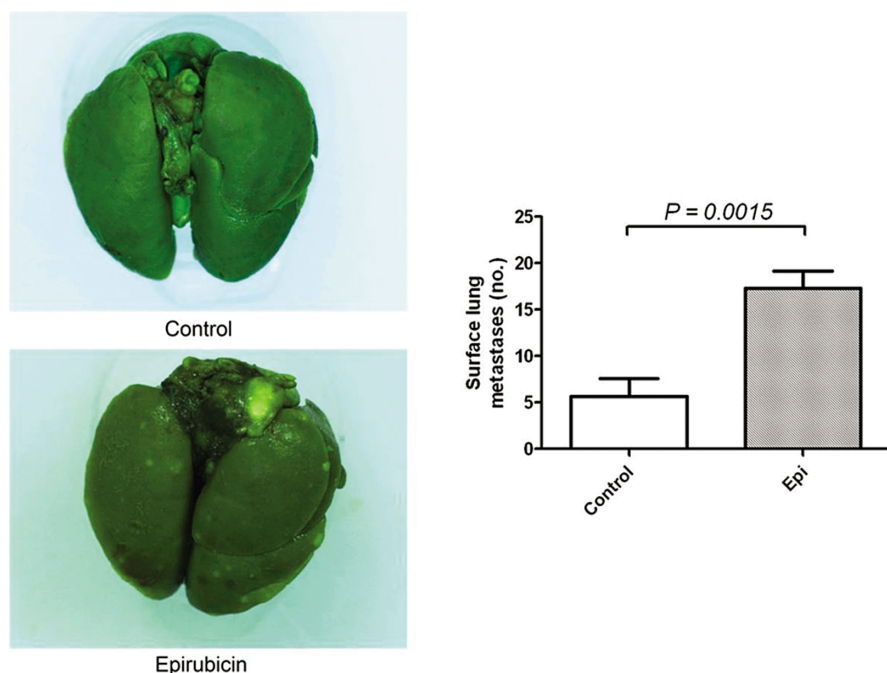


图 4 表柔比星化疗促进了小鼠 4T1 乳腺癌的肺部转移

Fig. 4 Epirubicin chemotherapy increases lung metastases of 4T1 breast cancer

Note: The mice in the epirubicin treatment group showed significant increase in the numbers of surface lung metastases compared to those in the control group, $P < 0.05$.

3 讨论

化疗对肿瘤转移的影响一直是一个充满争议的课题, 传统观点认为化疗可以通过毒性作用损伤肿瘤细胞的生物学功能,

同时消灭潜在的微小转移灶, 从而抑制肿瘤的转移, 到现在这个观点依然不乏文献支持。Bonfil 等^[11]发现长春瑞滨处理可以抑制膀胱癌的增殖和侵袭, Miyahara 等^[12]也报道了口服替加氟化疗可以抑制肺癌的转移。Yu 等^[13]报道了联合应用顺铂和多

西他赛可以通过刺激 miRNA-29c/catenin- δ 信号通路,抑制胃癌的转移。但是随着研究的深入,不断有研究报道化疗促进了肿瘤的侵袭和转移。De Larco 等^[4]报道了低转移性的乳腺癌细胞系 MCF-7 经过 2 周持续化疗处理后,残存的肿瘤细胞相比于未处理的细胞,细胞间的连接变得松散,在裸鼠成瘤实验中,移植瘤生长更快,表现出更强的转移性。Biswas 等^[3]的研究发现,放疗和阿霉素化疗可增加乳腺癌荷瘤小鼠的循环肿瘤细胞数和肺部转移灶数目,并认为这种效应与 TGF- β 1 的表达增加有关。Xiong 等^[5]报道了体外培养的肝癌细胞经过化疗处理后,残癌细胞侵袭和迁移能力得到增强,且表现出上皮-间质转化(Epithelial-mesenchymal translation, EMT)的表型。Sun 等^[2]研究发现,前列腺癌经过氧化氢、化疗、放疗等 DNA 损伤手段处理后,可以促进前列腺成纤维细胞分泌 WNT16B,提高前列腺癌上皮细胞的增殖、迁移和侵袭能力,增加对化疗药的抵抗,促进 EMT。直到目前,化疗对肿瘤转移究竟有何影响,始终没有定论。

我们的研究发现,经过表柔比星处理的乳腺癌细胞在体外实验中表现出更强的迁移和侵袭能力,表柔比星化疗组的乳腺癌荷瘤小鼠肺部有更多的表面转移灶的形成,实验结果支持了化疗对肿瘤转移起促进作用的观点,并观察到了表柔比星处理后乳腺癌细胞中 MTA1 表达的增加。MTA1 是一个与乳腺癌转移高度相关的分子,其发现之初就被注意到在不同的乳腺癌细胞株中,MTA1 的表达水平与该细胞株的侵袭和迁移能力成正比,因此而得名^[4]。它可以通过调控 RNFI44A^[15]、STAT3^[16]等下游靶分子的表达,增强乳腺癌细胞的侵袭能力,同时在 TGF- β 1-MTA1-E-cadherin 轴中居于中心地位,通过下调 E-cadherin 的转录,促进 EMT^[7]。新的研究认为,MTA1 还可以通过促进肿瘤细胞中基质金属蛋白酶 MMP9 的表达^[9,17],以及与血管内皮生长因子相互作用,诱导肿瘤血管生成^[8],从而促进肿瘤转移。我们所观察到的肿瘤细胞转移潜能的增强,可能正是由 MTA1 相关的生物学效应引起的。实验中 MCF-7 细胞经过表柔比星处理后出现迁移能力的增加并伴有 MTA1 表达的上调,但 transwell 试验并未观察到其侵袭能力的显著提高,我们认为这一结果可能与 MCF-7 细胞本身侵袭性极低有关,虽有 MTA1 表达增加,但其效应并不足以使 MCF-7 细胞获得足够的侵袭能力穿过铺有 Matrigel 基质胶的 Boyden 小室。

既往研究证实,多种损伤因素对 MTA1 的表达均有诱导作用。Yoo 等^[18]发现在缺氧条件下乳腺癌中 MTA1 表达水平明显升高,使缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)发生去乙酰化,从而稳定了 HIF-1 α 的结构,而后者是肿瘤血管生成过程中的重要分子。Chen 等^[19]报道了经过有生殖毒性的邻苯二甲酸-单-乙基己基酯处理后,小鼠睾丸支持细胞中的 MTA1 水平有了明显升高。Li 等^[20]的研究发现紫外线照射会刺激细胞上调 MTA1 的表达,促进 DNA 修复,并阻滞细胞周期,有助于细胞应对 DNA 损伤。Wang^[21]提出 MTA1 是一种应激蛋白,当细胞受到各种环境刺激时,MTA1 的表达会上调,帮助细胞应对压力,求得生存。我们观察到的乳腺癌在表柔比星化疗后出现的 MTA1 高表达与文献报道的 MTA1 受环境因素诱导的现象是一致的。综上所述,我们认为,化疗是一种强烈的刺激因素,其毒性作用

在杀伤肿瘤细胞的同时能够引起肿瘤的应激反应,而 MTA1 可能正是肿瘤应激反应过程中的一个关键的效应分子,刺激了残存肿瘤的侵袭和迁移以逃避死亡,从而表现为转移的增强。我们的工作为化疗促进肿瘤转移的观点提供了新的证据,从一个新的角度解释了乳腺癌化疗失败的原因。而化疗后 MTA1 表达的增加主要通过哪种途径促进肿瘤转移? MTA1 在其他恶性肿瘤的化疗中是否发挥了类似的作用? 其能否成为一个改善肿瘤化疗效果、减少转移的新的靶点? 这些都需要通过后续实验进一步研究和探讨。

参考文献(References)

- [1] Yamauchi K, Yang M, Hayashi K, et al. Induction of cancer metastasis by cyclophosphamide pretreatment of host mice: an opposite effect of chemotherapy[J]. Cancer Res, 2008, 68(2): 516-520
- [2] Sun Y, Campisi J, Higano C, et al. Treatment-induced damage to the tumor microenvironment promotes prostate cancer therapy resistance through WNT16B[J]. Nat Med, 2012, 18(9): 1359-1368
- [3] Biswas S, Guix M, Rinehart C, et al. Inhibition of TGF-beta with neutralizing antibodies prevents radiation-induced acceleration of metastatic cancer progression[J]. J Clin Invest, 2007, 117(5): 1305-1313
- [4] De Larco JE, Wuertz BR, Manivel JC, et al. Progression and enhancement of metastatic potential after exposure of tumor cells to chemotherapeutic agents[J]. Cancer Res, 2001, 61(7): 2857-2861
- [5] Xiong W, Ren ZG, Qiu SJ, et al. Residual hepatocellular carcinoma after oxaliplatin treatment has increased metastatic potential in a nude mouse model and is attenuated by Songyou Yin [J]. BMC Cancer, 2010, 10: 219
- [6] Cheng CW, Liu Y F, Yu JC, et al. Prognostic significance of cyclin D1, beta-catenin, and MTA1 in patients with invasive ductal carcinoma of the breast[J]. Ann Surg Oncol, 2012, 19(13): 4129-4139
- [7] Pakala SB, Singh K, Reddy SD, et al. TGF-beta1 signaling targets metastasis-associated protein 1, a new effector in epithelial cells[J]. Oncogene, 2011, 30(19): 2230-2241
- [8] Nagaraj SR, Shilpa P, Rachaiah K, et al. Crosstalk between VEGF and MTA1 signaling pathways contribute to aggressiveness of breast carcinoma[J]. Mol Carcinog, 2013
- [9] Weng W, Yin J, Zhang Y, et al. Metastasis-associated protein 1 promotes tumor invasion by downregulation of E-cadherin [J]. Int J Oncol, 2014, 44(3): 812-818
- [10] Pulaski BA, Ostrand-Rosenberg S. Mouse 4T1 breast tumor model [J]. Curr Protoc Immunol, 2001, Chapter 20: 20-22
- [11] Bonfil RD, Russo DM, Schmilovich AJ. Exposure to vinorelbine inhibits in vitro proliferation and invasiveness of transitional cell bladder carcinoma[J]. J Urol, 1996, 156(2 Pt 1): 517-521
- [12] Miyahara R, Nakagawa T, Ishikawa S, et al. UFT inhibits lung metastases in spontaneous metastasis model of lung cancer[J]. Thorac Cardiovasc Surg, 2005, 53(2): 118-121
- [13] Yu J, Wang Y, Liu C, et al. Chemotherapy-induced miRNA-29c/catenin-delta signaling suppresses metastasis in gastric cancer[J]. Cancer Res, 2015[Epub ahead of print]

- pathways in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy[J]. *Cancer letters*, 2014, 353(2): 160-166
- [6] Yamaguchi M, Sugio K. Current status of induction treatment for N2-Stage III non-small cell lung cancer [J]. *General thoracic and cardiovascular surgery*, 2014, 62(11): 651-659
- [7] Li XS, Fan HX, Fang H. Value of Whole-Tumor Dual-Input Perfusion CT in Predicting the Effect of Multiarterial Infusion Chemotherapy on Advanced Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *American journal of roentgenology*, 2014, 203(5): W497-505
- [8] Jorge SE, Kobayashi SS, Costa DB. Epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in lung cancer: preclinical and clinical data [J]. *Brazilian journal of medical and biological research*, 2014, 47(11): 929-939
- [9] Qian LR, Fu W, Shen JL. Agents for refractory/relapsed acute lymphocytic leukemia in adults [J]. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2014, 18(17): 2465-2474
- [10] Benites EC, Cabrini DP, Silva AC. Acute respiratory viral infections in pediatric cancer patients undergoing chemotherapy [J]. *Jornal de pediatria*, 2014, 90(4): 370-376
- [11] Niewerth D, Jansen G, Riethoff LF. Antileukemic activity and mechanism of drug resistance to the marine *Salinispora tropica* proteasome inhibitor salinosporamide A (Marizomib) [J]. *Molecular pharmacology*, 2014, 86(1): 12-19
- [12] Valković T, Seili-Bekafigo I, Bašić-Kinda S. Therapy-related acute myeloblastic leukemia after splenectomy in a patient with composite lymphoma developing after treatment of chronic lymphocytic leukemia[J]. *Annals of hematology*, 2014, 93(6): 1057-1059
- [13] Saleh AJ, Alhejazi A, Ahmed SO. Leukemia during pregnancy: long term follow up of 32 cases from a single institution [J]. *Hematology*, 2014, 7(2): 63-68
- [14] Kojima K, Ando T, Kimura S. Molecular targeted therapy in lymphoid leukemias[J]. *Nihon rinsho*, 2014, 72(6): 1094-1098
- [15] Bonanthaya R, Appaji L, Lakshmaiah KC. A child with acute lymphocytic leukaemia[J]. *Malawi medical journal*, 2014, 26(2): 51-52
- [16] Niscola P, Ragusa D, Scaramucci L. Unexplained severe Coombs-negative hemolytic anemia during treatment of refractory chronic lymphocytic leukemia with alemtuzumab [J]. *Annals of hematology*, 2014, 93(5): 863-865
- [17] Wang J, Zhang BH, Xue HM. Hyperglycemia during chemotherapy influences the prognosis of children with acute lymphocytic leukemia [J]. *Journal of experimental hematology*, 2014, 22 (1): 69-72
- [18] Zeng DF, Zhang J, Zhu LD. Analysis of drug resistance-associated proteins expressions of patients with the recurrent of acute leukemia via protein microarray technology [J]. *European review for medical and pharmacological sciences*, 2014, 18(4): 537-543
- [19] Moraes EF, Lira JA. Oral manifestations resulting from chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 2014, 80(1): 78-85
- [20] Azimi F, Jafariyan M, Khatami S. Assessment of Thiopurine-based drugs according to Thiopurine S-methyltransferase genotype in patients with Acute Lymphoblastic Leukemia [J]. *Iranian journal of pediatric hematology and oncology*, 2014, 4(1): 32-38

(上接第 3442 页)

- [14] Toh Y, Pencil SD, Nicolson GL. A novel candidate metastasis-associated gene, mta1, differentially expressed in highly metastatic mammary adenocarcinoma cell lines. cDNA cloning, expression, and protein analyses[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(37): 22958-22963
- [15] Marzook H, Li DQ, Nair VS, et al. Metastasis-associated protein 1 drives tumor cell migration and invasion through transcriptional repression of RING finger protein 144A [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(8): 5615-5626
- [16] Pakala SB, Rayala SK, Wang RA, et al. MTA1 promotes STAT3 transcription and pulmonary metastasis in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(12): 3761-3770
- [17] Jiang Q, Zhang H, Zhang P. ShRNA-mediated gene silencing of MTA1 influenced on protein expression of ER alpha, MMP-9, CyclinD1 and invasiveness, proliferation in breast cancer cell lines MDA-MB-231 and MCF-7 in vitro [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30: 60
- [18] Yoo YG, Kong G, Lee MO. Metastasis-associated protein 1 enhances stability of hypoxia-inducible factor-1alpha protein by recruiting histone deacetylase 1[J]. *EMBO J*, 2006, 25(6): 1231-1241
- [19] Chen S, Dong Y, Xu C, et al. Involvement of a chromatin modifier in response to mono-(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP)-induced Sertoli cell injury: probably an indirect action via the regulation of NFkappaB/FasL circuitry [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 440(4): 749-755
- [20] Li DQ, Ohshiro K, Khan MN, et al. Requirement of MTA1 in ATR-mediated DNA damage checkpoint function [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(26): 19802-19812
- [21] Wang RA. MTA1--a stress response protein: a master regulator of gene expression and cancer cell behavior [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2014, 33(4): 1001-1009