

PYK2 介导 H460 肺肿瘤细胞失巢凋亡抗性的机制

赵伟锋¹, 梁星丽³, 张 蓉², 丁 娅¹, 彭瑞清¹, 张晓实¹, 张 星^{1*}
(华南肿瘤学国家重点实验室//中山大学肿瘤防治中心 1.生物治疗科;2.内镜科, 广东 广州 510060;
3.黄河中心医院肿瘤科, 河南 郑州 450004)

摘要:【目的】研究蛋白激酶 PYK2 对悬浮状态下的肺癌细胞 H460 失巢凋亡抗性的作用和 PYK2 的下游通路蛋白。【方法】RNA 干扰实验采用逆转录病毒载体介导的稳定表达系统降低 PYK2 蛋白的表达;细胞悬浮培养实验用 polyHEMA 培养方法;用 PARP 断裂带和 DAPI 荧光染色检测细胞凋亡情况;细胞侵袭能力用侵袭小室实验;磷酸化蛋白激酶水平用免疫印记实验检测。【结果】用 RNA 干扰沉默能够降低 H460 细胞中 PYK2 蛋白的表达。抑制 PYK2 的表达能够降低悬浮培养 H460 细胞增殖能力和促进细胞凋亡增加。此外,沉默 PYK2 的表达能使肿瘤细胞侵袭能力下降,并降低磷酸化 Paxillin 和 Src 的水平,但不能降低磷酸化 JNK、AKT 和 ERK 的水平。【结论】PYK2 信号通路在 H460 肺癌细胞失巢凋亡抗性中起重要作用,Paxillin 和 Src 可能是 PYK2 的下游通路蛋白。

关键词: H460; 失巢凋亡抗性; PYK2; Paxillin; Src

中图分类号: R734.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2011)03-0297-06

Mechanism of Anoikis Resistance Mediated by PYK2 in H460 Lung Carcinoma Cells

ZHAO Wei-feng¹, LIANG Xing-li³, ZHANG Rong², DING Ya¹, PENG Rui-qing¹, ZHANG Xiao-shi¹, ZHANG Xing^{1*}
(1.Department of Biotherapy, 2.Department of Endoscopy, State Key Laboratory of Oncology in Southern China//Cancer Center of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China; 3.Department of Oncology, Central Hospital of Yellow River, Zhengzhou 450004, China)

Abstract: 【Objective】 To investigate roles of protein kinase PYK2 in anoikis resistance of lung carcinoma H460 cells, and the downstream signal transduction of PYK2. 【Methods】 The stable knockdown of PYK2 expression was achieved by RNA interference experiments mediated by Retrovirus vector. The experiment of suspension culture was used by polyHEMA culture system. PARP cleavage and DAPI dye were used to detect the cell apoptosis. Transwell chamber was used to determine the cell invasive ability. The phosphorylated level of protein kinase was investigated by Western blot. 【Results】 The level of PYK2 protein in H460 cells reduced by RNA interference system. The inhibition of PYK2 expression could decrease the proliferation of H460 tumor cells and increase the apoptosis of H460 tumor cells. Knockdown of PYK2 expression could reduce the cell invasive ability and reduce the phosphorylated level of Paxillin and Src protein kinase, but not the phosphorylated level of JNK, AKT, and ERK. 【Conclusion】 PYK2 plays an important role in anoikis resistance of H460 cell, and Paxillin and Src may be the downstream signals of PYK2.

Key words: H460; anoikis resistance; PYK2; paxillin; Src

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2011, 32(3):297-302]

失巢凋亡(anoikis)是一种形式的细胞程序性死亡,是正常上皮细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)脱离接触后而诱发的凋亡,它的功能是维持正常组织细胞的存活、凋亡、分化和生长的平衡。失巢凋亡抗性(锚定不依赖性生长)是肿

瘤原性转化的标志,失巢凋亡平衡的紊乱往往引起肿瘤的远端转移^[1]。恶性肿瘤上皮细胞在淋巴和血液系统的转移是脱离相应的细胞外基质,锚定不依赖性生长可以造成肿瘤上皮细胞脱离 ECM 后存活和迁移到远处器官组织、发生贴壁和增殖。

收稿日期:2011-01-10

基金项目:国家自然科学基金(30872931, 81071932)

作者简介:赵伟锋,硕士生, E-mail: zhaowf@sysucc.org.cn; *通信作者:张星,副教授,硕士生导师,研究方向:肿瘤分子靶向治疗和生物治疗, E-mail: zhangxing@sysucc.org.cn

所以失巢凋亡抗性在肿瘤的进展和转移中起重要的作用^[2]。目前对失巢凋亡抗性的机制还未清楚。因而研究肿瘤细胞抗失巢凋亡的分子机制, 鉴定其中起关键作用的信号通路和相关分子, 将可能为抗癌药物筛选提供更为理想的分子靶点。在脱离基质接触后, 肿瘤细胞出现聚集现象, 已有研究发现悬浮培养肿瘤细胞聚集体的大小和形式与悬浮状态下肿瘤细胞生存能力、细胞转化能力和体内裸鼠的致瘤性相关, 并且研究发现其与肿瘤干细胞相关。悬浮培养的细胞聚集体较软琼脂集落形成能力实验中的细胞容易收集和分析其蛋白表达水平。因此, 悬浮培养的细胞聚集形式已经成为新的致瘤和转移的标志^[3-4]。我们以前的实验结果发现 FAK (focal adhesion kinase) 只是部分介导肺癌细胞积聚体^[5], FAK 是酪氨酸激酶, 称局部粘着斑激酶。FAK 是介导细胞和细胞外基质粘附、肿瘤侵袭转移的重要的细胞信号转导通路。我们进一步的实验表明 PECAM 和 PYK2 介导肺癌细胞积聚体的形成, 从而介导失巢凋亡抗性^[6]。PYK2 (proline-rich tyrosine kinase-2) 是一种富含脯氨酸的非受体酪氨酸蛋白激酶, 参与细胞和基质成分粘附介导的信号传导。PYK2 的活化涉及到多条信号传导通路, 包括离子通道的调节、细胞增殖和细胞凋亡等, 其功能机制目前不十分清楚, 而且参与失巢凋亡抗性的 PYK2 下游通路尚不清楚。因而, 本文在以往的研究基础上进一步研究 PYK2 介导 H460 肺癌细胞失巢凋亡的抗性及其研究 PYK2 的下游相关通路分子。

1 材料和方法

1.1 材料

JNK1/2、ERK MAPK、磷酸化 Akt、Akt、Src 和磷酸化 Paxillin 抗体购自 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA) 公司; PYK2 抗体购自 Biosource (Camarillo, CA) 公司; Paxillin 抗体购自 Transduction Laboratory (San Diego, CA) 公司; AKT 抗体、磷酸化 ERK、磷酸化 Src 抗体购自 New England Biolabs (Beverly, MA) 公司; 磷酸化 JNK 抗体购自 Promega (Madison, WI) 公司; PARP 抗体购自 Pharmagen (San Diego, CA) 公司; Tubulin 抗体购自 Sigma (St. Louis, MO) 公司。DAPI 染料购自 Sigma (St. Louis, MO) 公司。

1.2 细胞培养

H460 人肺癌上皮细胞从美国 ATCC 细胞库 (Rockville, MD) 中购买, 在含有 100 mL/L 小牛血清、 10^5 U/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 DMEM 培养基中培养, 在 37 °C、体积分数 5% CO₂ 培养箱中培养。

1.3 细胞悬浮培养方法

培养 H460 肺癌上皮细胞至对数生长期 (80% 铺满全层) 时, 用胰酶进行消化, 将 5 mL 细胞 (5×10^4 /mL) 种植于 60-mm polyHEMA 培养皿中, 在 37 °C、体积分数 5% CO₂ 培养箱中培养。实验结束时, 用相差倒置显微镜拍照和实验分析。PolyHEMA 培养皿制作过程如下: 用 2 mL polyHEMA [10 mg/mL polyhydroxyethylmethacrylate (Aldrich Chemical) 溶解在无水乙醇中] 溶液铺培养皿 2 次, 在超净工作台中风干 24 h 备用, 使用前用无菌 PBS 溶液冲洗 3 遍。

1.4 细胞侵袭实验 (cell invasion assay)

参见文献^[7]。H460 PYK2 RNAi 和对照组细胞无血清培养 24 h, 2×10^4 细胞种植在用 Matrigel (BD 公司) 覆盖的聚碳酸酯滤膜 Transwell 小室中的上室中。培养 22 h 后, 用棉签将小室上表面的细胞拭去, 将滤膜下表面穿过滤膜的细胞用 10 g/L 多聚甲醛溶液固定, 苏木素染色, 取 10 个随机视野 (200 ×) 计数, 取平均数。进行 3 次独立的实验重复。

1.5 Western blot 分析

H460 细胞收集后用 PBS 缓冲液洗涤, 然后在 4 °C 用 RIPA 液 (50 mmol/L Tris pH 7.5, 150 mmol/L NaCl, 10 mL/L NP40, 1 g/L SDS, 1 mmol/L PMSF, 1 mmol/L orthovanadate, 1 mmol/L Na₄P₂O₇, 10 mg/mL aprotinin, and 10 mg/mL leupeptin) 裂解细胞 30 min, 离心 (13 000 ×g, 5 min 4 °C) 取上清。蛋白定量用 Bio-Rad 蛋白分析试剂盒 (Bio-Rad Laboratories, CA)。等量的蛋白加样缓冲液 (30 μg) 在 SDS 聚丙烯酰胺凝胶 (7.5%) 中进行电泳。在 80 V 条件下转印 2 h, 然后用含 50 g/L 脱脂奶粉的 TBST 溶液中室温封闭 1 h, 再加入 1:1 000 相应的抗体室温反应 2 h, TBST 溶液洗 3 遍, 加二抗反应 1 h, TBST 洗 3 遍, ECL 显色, 暗室压片及冲洗胶片。

1.6 质粒的构建

逆转录病毒载体 pRETRO-SUPER RNA

interference的构建参照文献[8]。插入的PYK2的正义链片段为5'-gatccccCTGGTCAAATGCAC TGTCCTtcaagagaGGACAGTGCATTTGACCAGttttgga aa3',用大写数字标明靶基因的19个核苷酸序列。将正义链核苷酸片段变性和磷酸化,连接入pRETRO-SUPER载体中,用酶切和测序鉴定插入的片段是否正确。用试剂盒抽提和纯化质粒。

1.7 细胞转染和逆转录病毒感染

转染pRETRO-SUPER载体入病毒包装细胞用磷酸钙的方法,转染48 h后,0.45 μm 的滤膜过滤产病毒的培养液上清,采用2 mL病毒原液(过滤的培养上清),加2 mL新鲜培养液感染细胞。用上清感染细胞6 h后,更换新鲜的培养液继续培养24 h,筛选细胞感染的阳性细胞用含2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ puromycin的培养液培养48 h。

1.8 流式细胞仪分析

凋亡实验用Annexin V-FITC检测试剂盒(CALBIOCHEM)进行。用PBS溶液洗涤收集的H460细胞,加0.5 mL预冷的1 \times 结合缓冲液重悬,加入1.25 μL Annexin V-FITC,室温避光反应15 min。离心去上清,将细胞用0.5 mL预冷的1 \times 结合缓冲液重悬。加入10 μL 碘化丙啶(propidium iodide,PI),将样本放置在冰上避光保存。用流式细胞仪(FACScan; Becton Dickinson)检测分析。

1.9 统计学分析

统计学处理采用SPSS 10.0统计软件进行,以 $\alpha = 0.05$ 为显著性水平。

2 结果

2.1 PYK2 RNA干扰转染入H460肿瘤细胞对降低细胞内PYK2蛋白表达的影响

用RNA干扰降低H460细胞中PYK2蛋白表达的方法,从而研究PYK2蛋白在H460细胞失巢凋亡抗性中的作用。将构建的pRetro-Super PYK2 RNA逆转录病毒载体转染入H460肺癌细胞中后,用抗生素puromycin(嘌呤霉素)筛选来建立稳定表达PYK2 RNA干扰的H460细胞株。Western blot实验检测证实H460细胞株中PYK2蛋白的表达明显下降(图1)。

2.2 降低PYK2表达对H460肺肿瘤细胞锚定不依赖性生长的影响

将PYK2 RNAi H460肺癌上皮细胞和H460

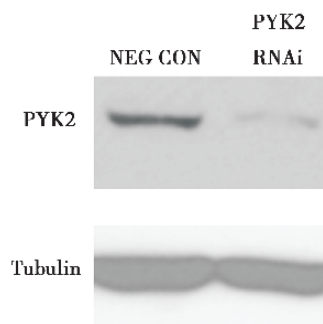


图1 H460 RNA干扰细胞中PYK2蛋白的表达水平
Fig.1 Expression of total protein levels of PYK2 in H460 RNAi cells

NEG CON: scramble RNA interference cells, PYK2 RNAi: PYK2 RNA interference cells

对照细胞在polyHEMA培养皿上悬浮培养,分别培养1、2、3和4 d后,用台盼蓝排除实验计数存活的细胞,结果表明PYK2 RNAi H460细胞在悬浮状态生长较H460对照组细胞慢(图2)。

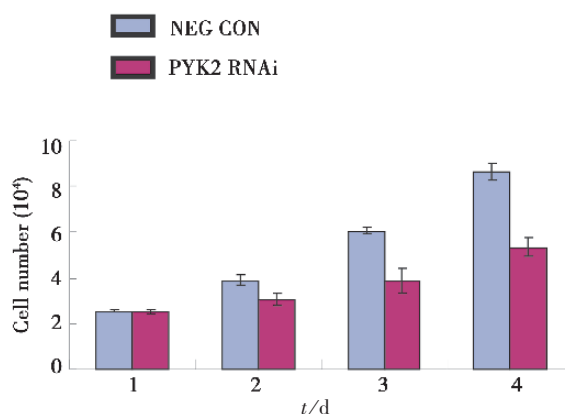


图2 H460 PYK2 RNAi细胞和H460对照细胞在PolyHEMA悬浮培养下的增殖情况

Fig.2 Proliferation of H460 PYK2 RNAi cells and control cells on polyHEMA dishes

NEG CON: scramble RNA interference cells; PYK2 RNAi: PYK2 RNA interference cells (Viable cells were counted using trypan blue exclusion)

2.3 降低PYK2表达对悬浮生长H460肺肿瘤细胞凋亡的影响

和H460对照组细胞相比,转染PYK2 RNA干扰的H460细胞悬浮细胞凋亡增加,Western blot实验可检测到明显的PARP断裂带(图3)。和H460对照组细胞相比,流式细胞仪检测H460

PYK2 RNA 干扰组悬浮细胞凋亡的百分比增加, 分别为 11 %和 32%($P < 0.01$, 图 4 A,B)。

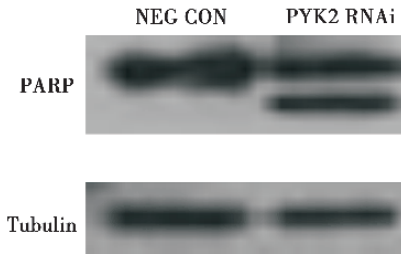


图 3 H460 PYK2 RNAi 细胞和 H460 对照细胞在 PolyHEMA 悬浮培养下的 PARP 断裂分析

Fig.3 Analysis of apoptosis by detection of PARP cleavage in H460 PYK2 RNAi cells and control cells on polyHEMA dishes

NEG CON;scramble RNA interference cells; PYK2 RNAi; PYK2 RNA interference cells

2.4 降低 PYK2 表达对 H460 肺肿瘤细胞侵袭的影响

和无转染的细胞相比,PYK2 干扰肿瘤细胞侵袭能力下降。和 H460 对照组细胞相比,PYK2 RNA 干扰细胞显著地降低侵袭性 (分别为 87.1 ± 5.1 和 27.9 ± 3.1 , $P < 0.001$; 图 5 A,B)。

2.5 PYK2 RNA 干扰对 H460 悬浮培养细胞 ERK、JNK、Src、Akt 和 Paxillin 激酶的影响

悬浮培养 PYK2 RNA 干扰 H460 细胞和 H460 对照细胞 8 h, 比较 ERK、JNK、Src、Akt 和 Paxillin 激酶的活化状态。Paxillin 和 Src 蛋白激酶的磷酸化水平在 H460 PYK2 干扰细胞中降低, 而 JNK、AKT 和 ERK 蛋白激酶磷酸化水平在 H460 PYK2 干扰细胞中无改变(图 6)。

3 讨论

探讨失巢凋亡的机制对恶性肿瘤的研究有重要的意义, 一旦肿瘤细胞开始转移, 就获得了抵抗细胞锚定依赖性凋亡(失巢凋亡)的特性。肿瘤细胞的失巢凋亡抗性是恶性肿瘤侵袭性增强和远处转移的重要特征, 近年来发现其也是肿瘤干细胞的重要特性之一。不同类型的肿瘤细胞,其抗失巢凋亡的机制应该是有所不同的。目前研究表明, 肿瘤细胞的抗失巢凋亡机制可能与下列因素有关:①蛋白激酶的信号途径, 比如整合素、生长因

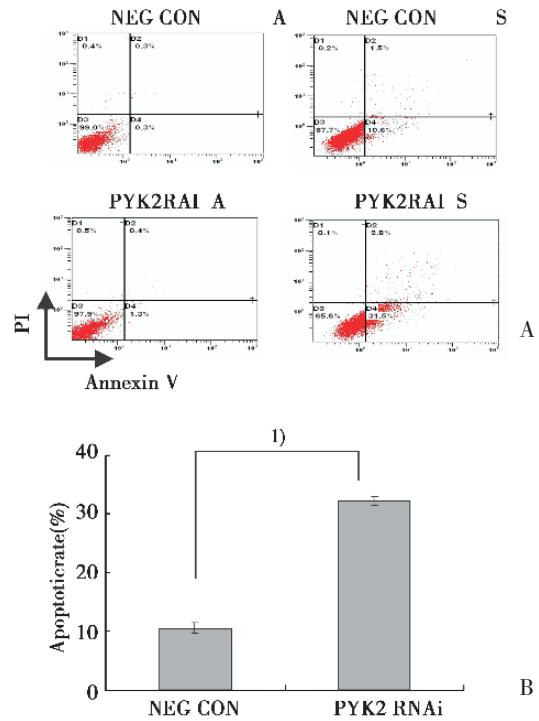


图 4 流式细胞仪检测 H460 PYK2 RNAi 细胞和 H460 对照细胞的凋亡分析(24 h)

Fig.4 Detection of apoptosis by Annexin V/propidium iodide (AV/PI) DNA staining and flow cytometry (24 h)

A;Percent of early apoptotic cells determined by flow cytometry using AV/PI binding. Quadrant D1: PI/AV +/-, necrotic; D2: PI/AV +/+, late apoptotic/necrotic; D3: PI/AV -/-, live cells; D4: PI/AV -/+, early apoptotic cells;B;Histograms of flow cytometry data. Data from at least three separate experiments were analyzed using Student's *t* test. 1) $P < 0.001$. NEG CON; scramble RNA interference cells;PYK2 RNAi; PYK2 RNA interference cells

子受体介导的相关激酶信号转导通路;②细胞骨架的作用;③死亡受体(如 FAS)的作用。但是目前失巢凋亡抗性的机制还未清楚^[1,9-11]。

我们以前的研究发现磷酸化的 FAK 传导信号与悬浮培养肿瘤细胞聚集有关^[5,19]。但用 RNA 干扰沉默 FAK 蛋白的表达只是部分地降低细胞聚集体的大小, 这表明 FAK 不是介导细胞的积聚体主要的因素, 还有其它的因素参与细胞聚集形成的信号传导^[5]。我们以往的实验进一步发现 PYK2 活化与失巢凋亡密切相关, 阻断 PYK2 的表达可以抑制肿瘤细胞聚集体的形成并降低肿瘤细胞的转化能力^[6]。因此, 本文进一步研究阻断 PYK2 的表达对肿瘤细胞凋亡、侵袭和下游信号传导通路的作用。

PYK2 是一种富含脯氨酸的非受体酪氨酸蛋

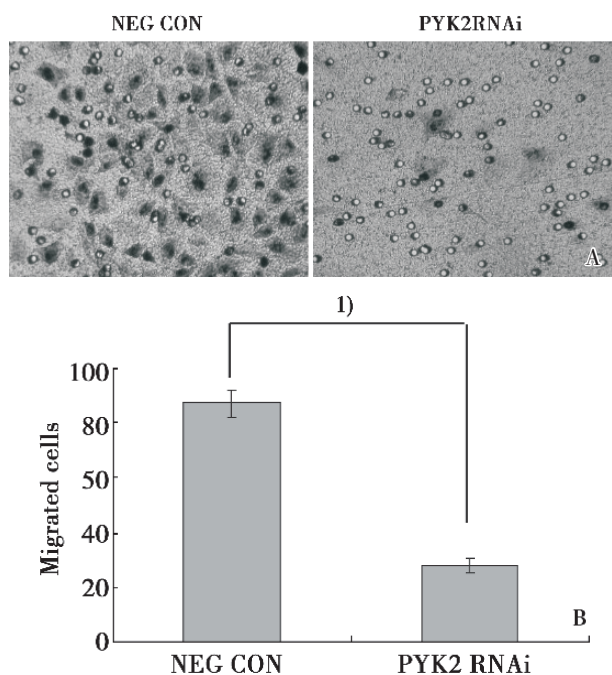


图5 A和B H460 PYK2 RNAi细胞和H460对照细胞细胞侵袭能力分析

Fig.5 The invasive properties of the cells were analyzed by an invasion assay in H460 PYK2 RNAi cells and control cells

A: Morphology of H460 cells in invasion assay ($\times 200$); B: Graphical representation of microscopy data expressed as the migrated cells. 1) $P < 0.001$. NEG CON; scramble RNA interference cells; PYK2 RNAi; PYK2 RNA interference cells

白激酶2,参与细胞和基质成分粘附介导的信号传导。在氨基酸序列上与FAK有45%的同源性(催化功能域的同源性为61%)。PYK2在神经组织、造血组织以及小肠、肾、脾、附睾等处表达。PYK2的活化涉及到多条信号传导通路,包括离子通道的调节、细胞增殖和细胞凋亡等,其功能机制目前尚不十分清楚^[12-13]。RAFTK/Pyk2可被生长因子、激素、神经递子酪氨酸磷酸化,从而导致ERK的活化。RAFTK/Pyk2可被G蛋白偶联的受体和炎症细胞因子酪氨酸磷酸化,从而导致JNK的活化。RAFTK/Pyk2的分子结构、表达模式和与paxillin和细胞骨架蛋白的作用,还有他们在多种信号传导通路的潜能,使他们在细胞的多种活动中起重要作用^[12,14]。近年来有研究报道PYK2在肿瘤上皮细胞如肝细胞癌、肺癌和乳腺癌等中表达,提示它与肿瘤的发生和发展关系密切^[15-18]。PYK2和肿瘤的失巢凋亡罕见有报道。本课题研究PYK2介导

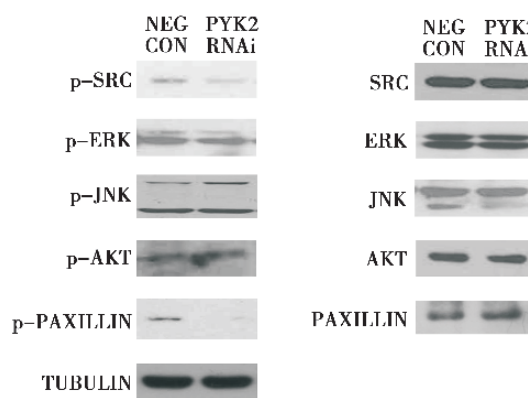


图6 PYK2 RNA 干扰悬浮培养 H460 细胞内蛋白激酶磷酸化 ERK、JNK、Src、Akt 和 Paxillin 激酶的表达水平
Fig.6 Phosphorylation levels of protein kinase ERK, JNK, Src, Akt, and Paxillin in H460 control cells (NEG) and PYK2 interference cells (PYK2 RNAi) on suspension culture

NEG CON; scramble RNA interference cells, PYK2 RNAi; PYK2 RNA interference cells

失巢凋亡的机制作用,从而为研究肺癌发生发展的分子机制提供依据。

我们的研究表明阻断PYK2的表达可以使悬浮培养肿瘤细胞增殖抑制、凋亡增加和侵袭性降低,表明PYK2介导失巢凋亡抗性。并且发现,阻断了PYK2的表达降低Paxillin和Src蛋白激酶的磷酸化水平,但对ERK、JNK、AKT和的磷酸化水平无影响,表明Paxillin和Src可能是PYK2的下游传导通路。Paxillin是一种细胞骨架蛋白,在整合素的信号传导中起着重要的作用,Paxillin与细胞的黏附、迁移、增殖、细胞骨架的重组和细胞的恶性转化有关^[20]。有关Paxillin和PYK2在肿瘤细胞失巢凋亡抗性中的关系还未见有报道。非受体酪氨酸激酶Src在多种实体肿瘤细胞株及病理组织中过表达或高活性,Src在细胞增殖、细胞周期、黏附、迁移以及侵袭的信号转导通路中发挥着重要的作用,Src的SH2结构域在信号转导途径中的重要作用^[21-22],Src和PYK2在肿瘤细胞失巢凋亡抗性中的关系还未清楚。因此,在将来的研究中,我们将进一步探讨PYK2和Paxillin及Src在失巢凋亡抗性中的作用和关系。

参考文献:

[1] Frisch SM, Screaton RA. Anoikis mechanisms[J]. Curr

- Opin Cell Biol, 2001, 13(5): 555-562.
- [2] Frisch SM, Ruoslahti E. Integrins and anoikis[J]. Curr Opin Cell Biol, 1997, 9(5): 701-706.
- [3] Takaoka T, Katsuta H, Akatsuka T. Carcinogenesis in tissue culture 24: tumorigenicity and aggregate-forming capacity of mammalian cells in culture [J]. Jpn J Exp Med, 1975, 45(4): 299-312.
- [4] Steuer AF, Ting RC. Formation of larger cell aggregates by transformed cells: an in vitro index of cell transformation[J]. J Natl Cancer Inst, 1976, 56(6): 1279-1280.
- [5] Fang Y, Zhang X, Zhang JR, et al. Correlation of GLC-82 lung carcinoma cell aggregation in suspension culture to the activation of protein kinases FAK, AKT, ERK, and SRC[J]. Ai Zheng, 2005, 24(10): 1206-1212.
- [6] Zhang X, Xu LH, Yu Q. Cell aggregation induces phosphorylation of PECAM-1 and Pyk2 and promotes tumor cell anchorage-independent growth[J]. Mol Cancer, 2010, 9:7.
- [7] Song LB, Li J, Liao WT, et al. The polycomb group protein Bmi-1 represses the tumor suppressor PTEN and induces epithelial-mesenchymal transition in human nasopharyngeal epithelial cells[J]. J Clin Invest, 2009, 119(12): 3626-3636.
- [8] Brummelkamp TR, Bernards R, Agami R. Stable suppression of tumorigenicity by virus-mediated RNA interference[J]. Cancer Cell, 2002, 2(3): 243-247.
- [9] Gilmore AP. Anoikis[J]. Cell Death Differ, 2005, 12 (Suppl 2): 1473-1477.
- [10] Rennebeck G, Martelli M, Kyprianou N. Anoikis and survival connections in the tumor microenvironment: is there a role in prostate cancer metastasis? [J]. Cancer Res, 2005, 65(24): 11230-11235.
- [11] Liotta LA, Kohn E. Anoikis: cancer and the homeless cell[J]. Nature, 2004, 430(7003): 973-974.
- [12] Shi CS, Kehrl JH. Pyk2 amplifies epidermal growth factor and c-Src-induced Stat3 activation [J]. J Biol Chem, 2004, 279(17): 17224-17231.
- [13] Gelman IH. Pyk 2 FAKs, any two FAKs[J]. Cell Biol Int, 2003, 27(7): 507-510.
- [14] Avraham H, Park SY, Schinkmann K, et al. RAFTK/Pyk2-mediated cellular signalling [J]. Cell Signal, 2000, 12(3): 123-133.
- [15] Zhang S, Guo D, Jiang L, et al. SOCS3 inhibiting migration of A549 cells correlates with PYK2 signaling in vitro[J]. BMC Cancer, 2008, 8:150.
- [16] Zhang S, Qiu X, Gu Y, et al. Up-regulation of proline-rich tyrosine kinase 2 in non-small cell lung cancer [J]. Lung Cancer, 2008, 62(3): 295-301.
- [17] Sun CK, Man K, Ng KT, et al. Proline-rich tyrosine kinase 2 (Pyk2) promotes proliferation and invasiveness of hepatocellular carcinoma cells through c-Src/ERK activation[J]. Carcinogenesis, 2008, 29(11):2096-2105.
- [18] Behmoaram E, Bijian K, Jie S, et al. Focal adhesion kinase-related proline-rich tyrosine kinase 2 and focal adhesion kinase are co-overexpressed in early-stage and invasive ErbB-2-positive breast cancer and cooperate for breast cancer cell tumorigenesis and invasiveness [J]. Am J Pathol, 2008, 173(5): 1540-1550.
- [19] 张星,管忠震,俞强. FAK 的活化促进悬浮肺肿瘤细胞的积聚、调亡抑制与增殖[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2004, 25(3): 195-199.
- [20] Sattler M, Pisick E, Morrison PT, et al. Role of the cytoskeletal protein paxillin in oncogenesis[J]. Crit Rev Oncog, 2000, 11(1): 63-76.
- [21] Guarino M. Src signaling in cancer invasion[J]. J Cell Physiol, 2010, 223(1): 14-26.
- [22] 来伟, 臧忠华. 酪氨酸激酶靶向的肿瘤生物学进展 [J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2008, 29(4s): 159-162.

(编辑 张恩健)