

PARP抑制对小鼠结肠癌细胞侵袭能力的影响

黎明, 王娅兰

(重庆医科大学基础学院病理教研室, 重庆 400016)

摘要:【目的】探讨多聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)抑制对小鼠结肠癌 CT26 细胞体外运动侵袭能力的影响及机制。【方法】细胞运动及侵袭试验观察 PARP 抑制对 CT26 细胞运动侵袭能力的影响;Western Blot 和明胶酶谱法分别检测 PARP 抑制对 CT26 细胞基质金属蛋白酶 MMP-2、MMP-9 表达和活性的影响。【结果】5-AIQ 处理组 CT26 细胞运动迁移率(70% ± 7%)和侵袭率(63% ± 10%)较 5-AIQ 未处理组(100% ± 7%、100% ± 11%)均减弱($P < 0.001$)。5-AIQ 处理组 CT26 细胞 MMP-2、MMP-9 表达(64% ± 12%、72% ± 12%)较 5-AIQ 未处理组(分别为 100% ± 11%、100% ± 21%)明显减弱($P=0.0003$ 、 0.0163)。且 CT26 细胞培养上清液中 MMP-2、MMP-9 活性,在 5-AIQ 处理组 [积分吸光度(IA)分别为 0.34 ± 0.07 、 0.40 ± 0.05]与未处理组(0.48 ± 0.10 、 0.61 ± 0.08)之间同样存在明显差别($P=0.0248$ 、 0.0013)。【结论】实验结果提示,PARP 抑制剂 5-AIQ 可降低 CT26 细胞的运动及侵袭能力,其可能与 5-AIQ 抑制 PARP 进而降低 CT26 细胞肿瘤侵袭转移相关因子 MMP-2 和 MMP-9 的表达和活性有关。

关键词: 多聚(ADP-核糖)聚合酶; 5-氨基异喹啉酮; 大肠癌; 肿瘤侵袭

中图分类号:R363.21 文献标识码:A 文章编号:1672-3554(2008)04-0388-05

Effect of PARP Inhibition on Invasiveness of Mouse Colon Carcinoma Cell Line

LI Ming, WANG Ya-lan

(Department of Pathology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract:【Objective】To approach the effects of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibition on the migration and invasion of mouse colon carcinoma cell line (CT26) *in vitro*, and its mechanism.【Methods】The effects of PARP inhibition on migratory and invasive potencies of CT26 were observed by cell migration assay and invasion assay. The effects of PARP inhibition on expressions and activities of MMP-2 and MMP-9 were investigated by Western Blot and zymography, respectively.【Results】The migratory rate (70% ± 7%) and invasive rate (63% ± 10%) of 5-AIQ-treated CT26 cells were both reduced ($P < 0.001$) compared with 5-AIQ-untreated cells (100% ± 7% and 100% ± 11%, respectively). The expressions of MMP-2 and MMP-9 of CT26 cells (64% ± 12% and 72% ± 12%, respectively) were significantly attenuated ($P = 0.0003$ and $P = 0.0163$) by 5-AIQ compared with 5-AIQ-untreated cells (100% ± 11% and 100% ± 21%, respectively). Moreover, the activities of MMP-2 and MMP-9 both had significant differences ($P = 0.0248$ and $P = 0.0013$) between supernatant of 5-AIQ-treated CT26 cells (IA: 0.34 ± 0.07 and 0.40 ± 0.05 , respectively) and 5-AIQ-untreated cells (IA: 0.48 ± 0.10 and 0.61 ± 0.08 , respectively).【Conclusion】The data suggested that PARP inhibitor 5-AIQ could inhibit migratory and invasive potencies of CT26 cells, probably because 5-AIQ decreased invasion-related factors, MMP-2 and MMP-9 by inhibiting PARP of CT26 cells.

Key words: poly(ADP-ribose)polymerase; 5-aminoisoquinolinone·HCl; invasion; colorectal neoplasm

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008, 29(4): 388-392]

多聚(ADP-核糖)聚合酶 [poly(ADP-ribose) polymerase, PARP], 是一种广泛存在于真核细

胞中的核酶。由 DNA 链断裂后激活, 把 NAD⁺ 裂解成尼克酰胺和 ADP-核糖(ADP-ribose), 而 ADP-

收稿日期: 2008-01-12

基金项目: 重庆市自然科学基金(2006BB52881), 重庆医科大学创新基金(CX200527)

作者简介: 黎明(1981-), 女, 重庆渝中区人, 硕士研究生, 主要从事肿瘤病理研究方向, E-mail: cqku1981@yahoo.com.cn; 王娅兰, 通讯作者, E-mail: wangyalan074@126.com

核糖被共价结合到不同的核蛋白上,形成聚(腺苷二磷酸核糖)[poly(ADP-ribose), PAR]。此反应会消耗大量的 NAD⁺和 ATP,如果 PARP 被过度激活会导致细胞的功能紊乱和死亡^[1]。而目前有少数研究证明,在部分肿瘤中存在 PARP 过度活化的现象。

5-氨基异喹啉酮(5-aminoisoquinolinone·HCl, 5-AIQ) 则是一种水溶性的 PARP 抑制剂。作为 PARP 的强效抑制剂,5-AIQ 能够减缓大鼠牙周炎模型的进展^[2],而且对小鼠的缺血性休克模型^[3]、脊髓损伤模型^[4]、急性肺损伤模型都有治疗缓解作用^[5]。但是 5-AIQ 能否通过抑制 PARP 而抑制肿瘤的侵袭转移,目前尚未见相关报道。

本研究以小鼠结肠癌 CT26 细胞为研究对象,观察 5-AIQ 抑制 CT26 细胞 PARP 后,对癌细胞侵袭转移能力的影响,并用 Western Blot 和明胶酶谱法检测肿瘤侵袭相关基因基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)MMP-2 和 MMP-9 的蛋白表达和活性,以探讨其可能的机制。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

CT26 为小鼠结肠癌细胞系由四川大学魏于全教授惠赠,5-AIQ 由英国 Bath 大学 Threadgill 教授惠赠,抗 MMP-2、MMP-9 和 actin 抗体、增强化学发光法(enhanced chemiluminescence, ECL)试剂盒(Western Blotting Luminol Reagent)均购自 Santa Cruz 公司,Matrigel 购自 BD 公司,辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体购自北京中杉生物技术公司,Transwell 小室(24 Well Transwell® Permeable Supports)购自 Corning 公司,蛋白裂解液(M-PER® Mammalian Protein Extraction Reagent)购自 Pierce 公司。电泳仪和半干转膜仪均购自 BIO-RAD 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 将小鼠结肠癌细胞 CT26 置入含 100 mL/L 小牛血清的 RPMI1640 培养液中,37 °C,50 mL/L CO₂ 培养箱培养。

1.2.2 运动实验 参照 Wu 的方法^[6]稍加修改,在 transwell 微孔膜的下表面包被 Fibronectin,在下室中加入含 100 mL/L 小牛血清的培养基 600 μL。CT26 细胞按终浓度 500 μmol/L 加入 5-AIQ 培养

16 h,未加 5-AIQ 为对照组(未处理组)。取细胞悬液 10⁶ /mL,100 μL/室,加入上室。每组设 3 个复室。37 °C,50 mL/L CO₂ 孵育 24 h 后,戊二醛固定、苏木素染色。用棉签擦去上室的细胞,风干,倒置显微镜下观察。高倍(400 倍)镜下随机观察 5 个视野,计数细胞,取细胞平均数,将对照组(5-AIQ 未处理组)迁移到微孔膜下表面的细胞数视为迁移率 100%,结果以迁移率表示。

1.2.3 侵袭实验 基本步骤同运动实验,仅在上室包被时采用稀释的 Matrigel (用无血清的 RPMI 1640 培养液按 1:5 稀释),30 μL/室。将对照组(5-AIQ 未处理组)侵袭穿透 Matrigel 胶迁移到微孔膜下表面的细胞数视为侵袭率 100%,结果以侵袭率表示。

1.2.4 Western Blot 将处于对数生长期的 CT26 细胞分别用最终浓度为 500 μmol/L 的 5-AIQ 和不含 5-AIQ 的培养液预处理,培养 16 h 后收集细胞。PBS 洗净细胞后,用 M-PER® Mammalian Protein Extraction Reagent 提取结肠癌 CT26 细胞总蛋白,按试剂盒说明进行。细胞蛋白提取液用 BAC 法测蛋白浓度。取等量的蛋白混合上样缓冲液加入上样孔中,在 80 g/L SDS-PAGE 胶上进行电泳后转膜。封闭非特异性结合位点之后,膜和抗 MMP-9, MMP-2 和 actin 的一抗孵育(稀释浓度 1:200 ~ 1:500),4 °C 过夜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗,最后用 ECL 试剂检测膜上的免疫反应条带,在凝胶成像仪下观察并进行分析。该实验重复 6 次。

1.2.5 明胶酶谱法 参照 Quesada 的方法^[7]稍加修改,取对数生长期 CT26 细胞以 1 × 10⁶ /瓶种于培养瓶中,培养过夜。次日,换无血清 RPMI1640 培养液培养 1 h。去培养基,分别用最终浓度为 500 μmol/L 的 5-AIQ 和不含 5-AIQ 的培养液 2 mL 预处理,培养 16 h 后收集上清液。收集各组培养上清液,低速离心去除细胞碎片。测定上清液的蛋白浓度,配制 75 g/L 分离胶及 50 g/L 浓缩胶,分离胶中加入以终浓度为 1 mg/mL 的明胶,取等量的蛋白混合上样缓冲液加入上样孔中,4 °C 恒温电泳。电泳完毕后将胶移入 2.5 mL/L TritonX-100 溶液中,在摇床上低速摇动以洗脱 SDS,漂洗后,加入明胶酶孵育缓冲液(50 mmol/L Tris, 40 mmol/L HCl, 200 mmol/L NaCl, 5 mmol/L CaCl₂, and 2 g/L Brij35)在 37 °C 温育 24 h。将凝胶漂洗后放入

考马斯兰 R-250 染色液中染色后脱色, 至对照出现清晰负染酶带。在凝胶成像仪下分析负染酶带并照相。该实验重复进行 5 次。

1.2.6 统计学处理 实验结果以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 采用 SAS 8.0 统计软件进行 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结 果

2.1 PARP 抑制对 CT26 细胞运动能力的影响

以对照组(5-AIQ 未处理组)最后迁移到微孔膜下表面的细胞视为迁移率 100%计算, 对照组的迁移率为 $100\% \pm 7\%$, 而实验组(5-AIQ 500 $\mu\text{mol/L}$ 处理组)CT26 细胞的迁移率为 $70\% \pm 7\%$, 其差别有统计学意义($t=11.37$, $P < 0.001$, $n = 15$)。与对照组比较, 实验组 CT26 细胞的迁移率有明显下降(图 1)。

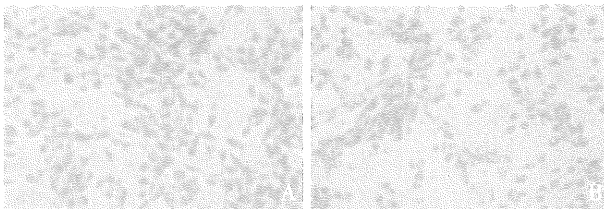


图 1 迁移到微孔膜下表面的细胞

Fig.1 CT26 Cells Migratory to Lower Surface of The Membrane

A: 5-AIQ-untreated (control) group; B: 5-AIQ-treated (500 $\mu\text{mol/L}$) group. Migration assay showing that 5-AIQ-treated cells resulted in low penetration of cells through the transwell membrane, compared with 5-AIQ-untreated (control) cells. Staining with hematoxylin, magnification, $\times 400$.

2.2 PARP 抑制对 CT26 细胞侵袭能力的影响

以对照组(5-AIQ 未处理组)最后侵袭 Matrigel 到微孔膜下表面的细胞视为侵袭率 100%计算, 对照组的侵袭率为 $100\% \pm 11\%$, 而实验组(5-AIQ 500 $\mu\text{mol/L}$ 处理组)CT26 细胞的侵袭率为 $63\% \pm 10\%$, 其差别有统计学意义($t=10$, $P < 0.01$, $n = 15$)。与对照组比较, 实验组 CT26 细胞的侵袭率有明显下降(图 2)。

2.3 PARP 抑制对 CT26 细胞 MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达的影响

分别以对照组(5-AIQ 未处理组)CT26 细胞 MMP-2 和 MMP-9 的表达为 100%计算, 对照组 CT26

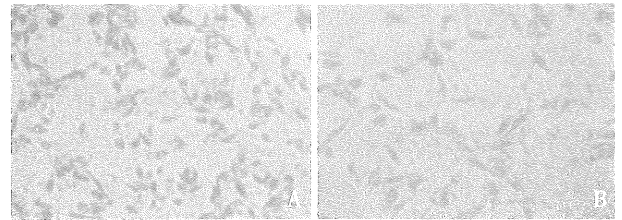


图 2 侵袭 Matrigel 到微孔膜下表面的细胞

Fig.2 CT26 cells invasive matrigel to lower surface of the membrane

A: 5-AIQ-untreated (control) group; B: 5-AIQ-treated (500 $\mu\text{mol/L}$) group. Invasion assay showing that 5-AIQ-treated cells resulted in low penetration of cells through the transwell membrane, compared with 5-AIQ-untreated (control) cells. Staining with hematoxylin, magnification, $\times 400$.

细胞的 MMP-9 的相对表达为 $100\% \pm 21\%$, 而实验组(5-AIQ 500 $\mu\text{mol/L}$ 处理组)的相对表达为 $72\% \pm 12\%$, 其差别有统计学意义($t=2.88$, $P=0.0163$, $n=6$)。对照组 CT26 细胞的 MMP-2 的相对表达为 $100\% \pm 11\%$, 而实验组的相对表达为 $64\% \pm 12\%$, 其差别有统计学意义($t=5.45$, $P=0.0003$, $n=6$)。与对照组比较, 实验组 CT26 细胞其 MMP-2 和 MMP-9 的蛋白表达都有明显下降(图 3)。

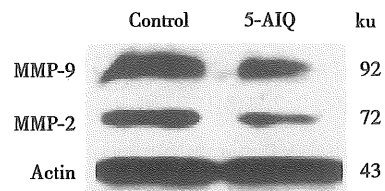


图 3 PARP 的抑制降低 Western blot 实验中 MMP-2 和 MMP-9 的表达

Fig.3 PARP inhibition decreased MMP-2 and MMP-9 expressions in Western blot analysis

The expressions of MMP-2 and MMP-9 in 5-AIQ-untreated (control) and 5-AIQ-treated CT26 cells. Actin protein levels were determined as an internal loading control. Control means 5-AIQ-untreated group; 5-AIQ means 5-AIQ-treated group.

2.4 PARP 抑制对 CT26 细胞 MMP-2 和 MMP-9 酶活性的影响

CT26 细胞分泌入上清液中的 MMP-2 和 MMP-9 通过明胶酶谱法来检测其活性, 实验组(5-AIQ 500 $\mu\text{mol/L}$ 处理组)CT26 细胞分泌的明胶酶 MMP-2 和 MMP-9 的活性较对照组(5-AIQ 未处理组)有显著减少, 其差别有统计学意义(表 1)。

表1 PARP抑制对CT26细胞上清液中MMP-2和MMP-9活性的影响

Table 1 The effect of PARP inhibition on activities of MMP-2 and MMP-9 of CT26 cells supernatant

	$(\bar{x} \pm s, n=5)$	
	MMP-2	MMP-9
control (5-AIQ-untreated) group (IA)	0.48 ± 0.10	0.61 ± 0.08
5-AIQ-treated group(IA)	0.34 ± 0.07	0.40 ± 0.05
t value	2.76	4.83
P value	0.0248	0.0013

IA: integrated absorbance

3 讨论

PARP普遍存在于真核细胞的细胞核内,其通过对细胞内众多蛋白质和酶类进行翻译后修饰,从而调节细胞内一系列的分子事件。目前的研究表明,PARP抑制可以减少多种病理生理现象的危害,如:动脉粥样硬化^[8]、风湿病^[9]、色素性视网膜炎^[10]及多种其他炎症。关于PARP与肿瘤的关系,只有少数的文章报道,在大肠癌^[11]、肺癌^[12]等多种恶性肿瘤中PARP表达均较各自正常对照组织明显增强。我们先前的研究表明^[11,13],在人大肠癌组织中,PAR(PARP活化的产物)在伴癌转移组织内的表达明显高于未伴癌转移的组织,且与P选择素(P-selectin)和细胞间粘附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)的表达呈正相关,且PARP抑制可以降低人大肠癌HT-29细胞与人脐静脉内皮细胞的黏附能力,提示PARP活性增强与大肠癌侵袭转移有关。Tentori L等^[14]则报道,PARP抑制剂有抗血管生成的作用。以上的资料提示,PARP可能在肿瘤的发生、发展和侵袭转移中发挥重要作用。

明胶酶MMP-2和MMP-9在肿瘤侵袭转移过程中发挥着重要作用^[15],它们主要作用是水解IV型胶原,而IV型胶原又是基底膜的主要成分,所以肿瘤细胞可以利用明胶酶水解基底膜,通过阿米巴运动转移到远处,这也是肿瘤细胞转移的一个重要机制。

本研究以小鼠结肠腺癌CT26细胞为研究对象,观察了5-AIQ抑制PARP后,CT26细胞运动侵袭能力的改变及MMP-2和MMP-9的表达和活性的变化。结果表明:5-AIQ可抑制CT26细胞迁移和侵袭微孔膜的能力,与之相一致的是,5-AIQ

同样降低CT26细胞明胶酶的表达,且对MMP-2的抑制作用更为明显;同样,从明胶酶谱的实验结果看出,5-AIQ也抑制了明胶酶的活性,且对MMP-9的作用更显著,这从另一个角度解释了,CT26细胞受5-AIQ处理后其迁移侵袭能力降低的原因。提示,PARP与CT26细胞的迁移和侵袭能力有关;而且5-AIQ作为PARP的抑制剂可以通过抑制MMP-2和MMP-9的表达和活性来降低CT26细胞的运动及侵袭能力。

综上所述,我们认为是因为5-AIQ对PARP的抑制,降低了MMP-2、MMP-9的表达和活性,从而抑制了CT26细胞运动和侵袭Matrigel膜的能力。这一结论为PARP在肿瘤侵袭转移中所起的作用做出了合理的解释,并为PARP抑制剂的研究提供了新的方向。

参考文献:

- [1] Virág L and Szabó C. The therapeutic potential of poly (ADP-ribose)polymerase inhibitors[J].Pharmacol Rev, 2002,54(3):375-429.
- [2] Di Paola R, Mazzone E, Muià C, et al. 5-Aminoisoquinolin-1(2H)-one, a water-soluble poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitor reduces the evolution of experimental periodontitis in rats[J].J Clin Periodontol, 2007,34(2):95-102.
- [3] Roesner JP, Vagts DA, Iber T, et al. Protective effects of PARP inhibition on liver microcirculation and function after haemorrhagic shock and resuscitation in male rats [J].Intensive Care Med,2006,32(10):1649-1657.
- [4] Genovese T, Mazzone E, Muià C, et al. Inhibitors of Poly (ADP-Ribose) Polymerase Modulate Signal Transduction Pathways and Secondary Damage in Experimental Spinal Cord Trauma[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2005, 312(2):449-457.
- [5] Cuzzocrea S, McDonald MC, Mazzone E, et al. Effects of 5-aminoisoquinolinone, a water-soluble, potent inhibitor of the activity of poly (ADP-ribose) polymerase, in a rodent model of lung injury[J]. Biochem Pharmacol, 2002, 63(2):293-304.
- [6] Wu X, Zeng H, Zhang X, et al. Phosphatase of Regenerating Liver-3 Promotes Motility and Metastasis of Mouse Melanoma Cells [J]. Am J Pathol, 2004, 164(6):2039-2045.
- [7] Quesada A, Barbacid M, Mira E, et al. Evaluation of fluorometric and zymographic methods as activity assays for stromelysins and gelatinases[J]. Clin Exp Metastasis, 1997,15(3):26-32.

- [8] Oumouna-Benachour K, Hans CP, Suzuki Y, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibition reduces atherosclerotic plaque size and promotes factors of plaque stability in apolipoprotein E-deficient mice: effects on macrophage recruitment, nuclear factor-kappaB nuclear translocation, and foam cell death[J]. *Circulation.*, 2007, 115(18):2442-2450.
- [9] García S, Bodaño A, Pablos JL, et al. Poly(ADP-ribose)polymerase inhibition reduces TNF-induced inflammatory response in rheumatoid synovial fibroblasts [J]. *Ann Rheum Dis*, 2008, 67(5):631-637.
- [10] Paquet-Durand F, Silva J, Talukdar T, et al. Excessive activation of poly(ADP-ribose) polymerase contributes to inherited photoreceptor degeneration in the retinal degeneration 1 mouse[J]. *J Neurosci*, 2007, 27(38):10311-10319.
- [11] 郝兰香, 王娅兰, 李圆圆. 大肠癌 PARP 表达与 P-selectin 和 ICAM-1 表达的相关性 [J]. *基础医学与临床*, 2006, 26(8):882-887.
- [12] Albert JM, Cao C, Kim KW, et al. Inhibition of Poly (ADP-Ribose) Polymerase Enhances Cell Death and Improves Tumor Growth Delay in Irradiated Lung Cancer Models[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(10):3033-3042.
- [13] Hao LX, Wang YL, Cai L, et al. Inhibitory effect of 5-aminoisoquinolinone on PARP activity in colon carcinoma cell line HT-29 [J]. *Ai Zheng*, 2007, 26(6):566-571.
- [14] Tentori L, Lacal PM, Muzi A, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibition or PARP-1 gene deletion reduces angiogenesis[J]. *Eur J Cancer*, 2007, 43(14):2124-2133.
- [15] 李劲松, 李海刚, 蔡华雄, 等. 明胶酶在舌鳞癌发生、演进中的表达和意义 [J]. *中山大学学报:医学科学版*, 2005, 26(1):109-111, 115.
- (编辑 孙慧兰)
-
- (上接 387 页 from page 387)
- potential of adult human mesenchymal stem cells [J]. *Science*, 1999, 284(5411):143-147.
- [5] Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons[J]. *J Neurosci Res*, 2000, 61(4):364-370.
- [6] Deng W, Obrocka M, Fischer I, et al. In vitro differentiation of human marrow stromal cells into early progenitors of neural cells by conditions that increase intracellular cyclic AMP [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 282(1):148-152.
- [7] 项鹏, 夏文杰, 王连荣, 等. 丹参注射液诱导间质干细胞分化为神经元样细胞 [J]. *中山医科大学学报*, 2001, 22(5):321-324.
- [8] Palmer TD, Markakis EA, Willhoite AR, et al. Fibroblast growth factor-2 activates a latent neurogenic program in neural stem cells from diverse regions of the adult CNS [J]. *Neurosci* 1999, 19(19):8487-8497.
- [9] Yaghoobi MM, Mowla SJ, Tiraihi T, et al. a coordinator of self-renewal, is expressed in rat marrow stromal cells and turns off after induction of neural differentiation [J]. *Neuroscience Letters*, 2005, 390(2):81-86.
- [10] Yagita Y, Kitagawa K, Sasaki T, et al. Differential expression of Musashi1 and nestin in the adult rat hippocampus after ischemia [J]. *J Neurosci Res*, 2002, 69(6):750-756.
- [11] Vaccarino FM, Schwartz ML, Raballo R, et al. Changes in cerebral cortex size are governed by fibroblast growth factor during embryogenesis [J]. *Nat Neurosci*, 1999, 2(9):848.
- [12] Jin K, Mao XO, Bateur S, Sun Y, et al. Induction of neuronal markers in bone marrow cells: differential effects of growth factors and patterns of intracellular expression [J]. *Exp Neurol*, 2003, 184(1):78-89.
- [13] Walsh S, Jefferiss CM, Stewart K, et al. IGF-I does not affect the proliferation or early osteogenic differentiation of human marrow stromal cells [J]. *Bone* 2003, 33(1):80-89.
- [14] Sotiropoulou PA, Perez SA, Salagianni M, et al. Characterization of the Optimal Culture Conditions for Clinical Scale Production of Human Mesenchymal Stem Cells [J]. *Stem Cells*, 2006, 24(2):462-471.
- [15] Neubauer M, Fischbach C, Bauer-Kreisel P, et al. Basic fibroblast growth factor PPARgamma ligand-induced adipogenesis of mesenchymal stem cells [J]. *FEBS Lett*, 2004, 577(1-2):277-283.
- [16] Satomura K, Derubeis A, Fedarko NS, et al. Receptor tyrosine kinase expression in human bone marrow stromal cells [J]. *J Cell Physiol*, 1998, 177(3):426-438.
- [17] Tassi E, Al-Attar A, Aigner A, et al. Enhancement of fibroblast growth factor (FGF) Activity by an FGF-binding Protein [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(43):40247-40253.
- [18] Xie B, Tassi E, Matthew R, et al. Identification of the fibroblast growth factor (FGF)-interacting domain in a secreted FGF-binding protein by phage display [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(2):1137-1144.
- [19] Amalric F, Bouche G, Bonnet H, et al. Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) in the nucleus: translocation process and targets [J]. *Biochem Pharmacol*, 1994, 47(1):111-115.
- [20] Yabe JT, Wang FS, Chylinski T, et al. Selective accumulation of the high molecular weight neurofilament subunit within the distal region of growing axonal neurites [J]. *Cell Motil Cytoskeleton*, 2001, 50(1):1-12.
- (编辑 孙慧兰)