

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.26.005

基质金属蛋白酶及其抑制剂在乳腺癌中的表达 *

滕晓丹¹ 张 明² 李志高^{2△} 郭欣欣¹ 陈 琢¹ 王洪斌²

(1 哈尔滨医科大学 黑龙江 哈尔滨 150040; 2 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 乳腺外科 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要 目的: 研究基质金属蛋白酶 2 (Matrix Metalloproteinase-2, MMP-2), 基质金属蛋白酶 7 (MMP-7), 基质金属蛋白酶 9 (MMP-9), 膜型基质金属蛋白酶 (Membrane Type-1 Matrix Metalloproteinase, MT1-MMP), 金属蛋白酶组织抑制剂 1 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase, TIMP-1), 金属蛋白酶组织抑制剂 2 (TIMP-2) 在乳腺癌组织中 mRNA 的表达, 及与临床病理变量之间的关联。**方法:** 采用 150 例乳腺癌患者的组织样本。使用半定量逆转录 - 聚合酶链反应 (RT-PCR) 法来测定肿瘤组织和正常乳腺组织中 MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1 和 TIMP-2 的 mRNA 表达。**结果:** MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1 和 TIMP-2 在乳腺癌中的 mRNA 表达显著高于正常组织。**结论:** MMP-2, MMP-7, MMP-9, 和 MT1-MMP 的表达增加和临床病理参数之间的关联, 可以用来预测乳腺癌的侵害行为。

关键词: 乳腺癌; 基质金属蛋白酶; 半定量 RT-PCR; 金属蛋白酶组织抑制剂

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)29-5620-05

Expression of Tissue Levels of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Breast Cancer*

TENG Xiao-dan¹, ZHANG Ming², LI Zhi-gao^{2△}, GUO Xin-xin¹, CHEN Zhuo¹, WANG Hong-bin²

(1 Master of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150040, China; 2 Department of Breast Surgery, Affiliated Third Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150040, China)

ABSTRACT Objective: To investigate mRNA expression of MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, and TIMP-2 in human breast cancer tissues, and the relationship between their expression and clinicopathological variability. **Methods:** Breast tissue samples from 150 patients with breast cancer were available in this study. Semiquantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) was carried out on tumor and normal tissues to determine mRNA expression for MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, and TIMP-2. **Results:** The expression of MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, and TIMP-2 mRNA in the breast cancer was significantly higher than that in the normal tissue. In terms of tumor size and lymph node metastasis of breast cancer, the differences in MMP-2, MMP-7, MMP-9, and MT1-MMP mRNA expression levels were significant. **Conclusions:** The relationship between the increased expression of MMP-2, MMP-7, MMP-9, and MT1-MMP and clinicopathological parameters reflects a role in predicting the aggressive behavior of breast cancer.

Key words: Breast cancer; Matrix metalloproteinase; Semi-quantitative RT-PCR; Tissue inhibitor of metalloproteinase

Chinese Library Classification: R737.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)29-5620-05

前言

乳腺癌都是女性人口中最常见的肿瘤之一。乳腺癌的生物标志物之一是基质金属蛋白酶(MMPs)。基底膜蛋白降解是癌症发展的一个基本方面,也是控制肿瘤扩散和转移的关键^[1]。对于基底膜的侵害是通过一系列离散步骤进行的^[2]。基底膜基质降解与各种亚型 MMPs 的活动以及相应的基质金属蛋白酶抑制剂(TIMPs)组织有着紧密联系^[3]。研究机构围绕 MMPs 和 TIMPs 在人类乳腺癌中的表达做了一些研究。但是,他们之间却有相对矛盾的结果。本研究主要研究 MMP-2, MMP-7,

MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 在乳腺癌组织中的 mRNA 表达,及其表达与临床病理变量之间的关联。

1 材料与方法

1.1 材料

收集哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 2011-2012 年间连续 150 例乳腺癌患者的乳腺组织样本,以及患者和肿瘤的临床和组织病理学数据,并对此加以分析。我们使用美国癌症协会的肿瘤 - 淋巴结转移分期系统来进行病理分析[T1:≤ 2 cm, T2:>2 cm 且≤ 5 cm, T3:> 5 cm, T4:任何尺寸的肿瘤直接侵犯到胸壁

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12531247);

黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12531246);黑龙江省卫生计生厅科研课题(2013067)

作者简介:滕晓丹(1985-),女,硕士研究生,电话:13796661351, E-mail:xiaodan345254900@hotmail.com

△通讯作者:李志高,电话:0451-86298091

(收稿日期:2014-03-10 接受日期:2014-04-08)

或皮肤; $pN0:0$, $pN1:1-3$, $pN2:4-9$, $pN3:\geq 10$]^[7]。组织学评估遵循 AJCC 分类^[6]。乳腺组织样本分别取自乳腺的癌变部分和非癌变部分,肿瘤组织和正常组织之间的最小距离为 5 厘米。每个组织在提取 RNA 前均由病理学家确认过。肿瘤组织和正常组织样本在手术移除后放到液氮中快速冷冻并保存在 -80°C 用于提取 RNA。此研究已取得患者知情同意,并得到了哈尔滨医科大学伦理委员会的批准。

1.2 RNA 的提取及反转录聚合酶链反应(RT-PCR)

本研究使用 ISOGEN (Nippon Gene, Toyama, Japan)从乳腺组织样本中提取 RNA 并使用分光光度法测定提取的 RNA 的数量和纯度。用 5 微克 RNA 和 T 重复寡核苷酸合成 cDNA。使用特异性引物将 cDNA 扩增为 MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1 和 TIMP-2 基因,或为 β -肌动蛋白基因,它被用作对照组。扩增产物可通过使用含溴化乙锭的 1.5-2%琼脂糖凝胶和紫外线照射对 PCR 产物进行电泳检测来测定。管家基因 β -肌动蛋白可用作对照和半定量分析 MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1 和 TIMP-2。我们使用 H_2O 来进行阴性对照,而不使用 cDNA。基因转录层次被转录为靶基因强度与 β -肌动蛋白强度的比率。

1.3 统计分析

该结果用均值 $\pm$ 标准差来表示。在我们的研究中,所有的基质金属蛋白酶及其抑制剂的表达呈正态分布。我们使用配对 T 检验对 MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 在正常组织和肿瘤组织的表达进行了比较。采用方差分析(ANOVA)对临床病理因素和 MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 的表达之间的关联进行了分析。所接受的显著性水平为 $P<0.05$ 。所有数据分析均使用 Windows 版 SPSS13.0 软件。

2 结果

2.1 临床病理资料

150 例患者年龄从 23 岁到 75 岁,平均 52.3 ± 11.5 岁。在 150 例乳腺癌中, T1 为 62 人(占 41.3%), T2 为 69 人(占 46.0%), T3 为 14 人(占 9.3%), T4 为 5 人(占 3.3%); N0 为 57 例(占 38.0%), N1 为 61 例(占 40.7%), N2 为 21 例(占 14.0%), N3 为 11 例(占 7.3%);组织学方面,导管类为 128 例(占 85.3%),小叶类为 8 例(占 5.3%),其他为 14 例(占 9.3%)。

2.2 MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 mRNA 的表达

MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 mRNA 的表达见图 1。MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 的 mRNA 在乳腺癌和正常乳腺组织的比较见表 1。MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1 和 TIMP-2 的表达与 β -actin 基因在乳腺癌中表达的平均值分别为 0.432 ± 0.049 , 0.475 ± 0.070 , 0.582 ± 0.042 , 0.291 ± 0.051 , 0.161 ± 0.065 和 0.165 ± 0.058 , 在正常乳腺组织中平均值分别为 0.140 ± 0.053 , 0.181 ± 0.049 , 0.261 ± 0.060 , 0.088 ± 0.035 , 0.062 ± 0.042 和 0.067 ± 0.045 (平均值 $\pm$ SE)。MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 在乳腺癌组织中的 mRNA 表达平均值明显高于正常乳腺组织($P<0.05$)。

2.3 MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1 和 TIMP-2 的 mRNA 的表达与乳腺癌肿瘤的大小关系

MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 的 mRNA 的表达与乳腺癌肿瘤大小关系的比较见表 2。MMP-2,

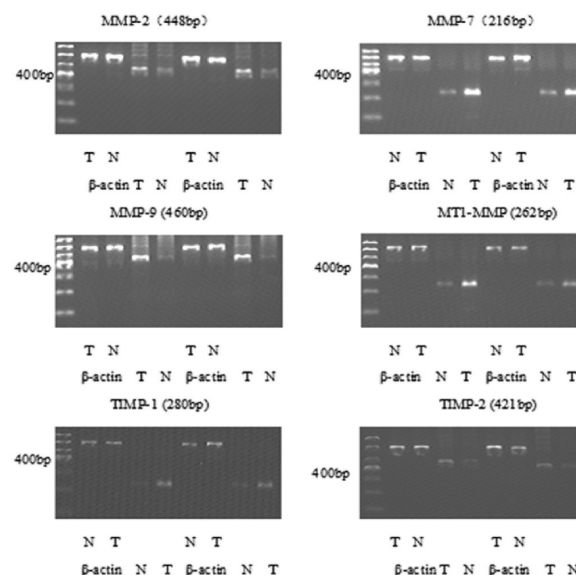


图 1 在正常组织和乳腺癌组织中的蛋白水解酶的 mRNA 表达: N, 正常组织; T, 肿瘤组织; MMP, 基质金属蛋白酶; MT1-MMP, 膜型基质金属蛋白酶 1; TIMP, 组织基质金属蛋白酶抑制剂

Fig. 1 Reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of mRNA expression for proteolytic enzymes in normal and tumor tissues; N, normal tissue; T, tumor tissue; MMP, matrix metalloproteinase; MT1-MMP, membrane-type 1 matrix metalloproteinase; TIMP, tissue inhibitor of matrix metalloproteinase

表 1 配对组织样本 MMPs 和 TIMPs mRNA 的表达

Table 1 Expression of MMPs and TIMPs mRNA in paired tissue samples

	肿瘤组织(Tumor tissue)	正常组织(Normal tissue)	P 值(P value)
MMP-2	0.432 ± 0.049	0.140 ± 0.053	<0.05
MMP-7	0.475 ± 0.070	0.181 ± 0.049	<0.05
MMP-9	0.582 ± 0.042	0.261 ± 0.060	<0.05
MT1-MMP	0.291 ± 0.051	0.088 ± 0.035	<0.05
TIMP-1	0.161 ± 0.065	0.062 ± 0.042	<0.05
TIMP-2	0.165 ± 0.058	0.067 ± 0.045	<0.05

MMP-7, MMP-9, 和 MT1-MMP 的 mRNA 表达随着肿瘤变大 TIMP-2 mRNA 表达无显著差异。而显著增加。(P < 0.05) 乳腺癌肿瘤大小不同时, TIMP-1 和

表 2 肿瘤的大小和 MMPs 和 TIMPs mRNA 的表达之间的关系

Table 2 Relationship between tumor size and the expression of MMPs and TIMPs mRNA

	肿瘤大小(Tumor size)				P 值(P value)
	T1 (n=62)	T2 (n=69)	T3 (n=14)	T4 (n=5)	
MMP-2	0.253± 0.040	0.495± 0.033	0.612± 0.065	0.652± 0.079	<0.05
MMP-7	0.237± 0.042	0.569± 0.028	0.628± 0.058	0.719± 0.086	<0.05
MMP-9	0.384± 0.033	0.662± 0.034	0.756± 0.072	0.908± 0.087	<0.05
MT1-MMP	0.132± 0.051	0.363± 0.035	0.415± 0.063	0.607± 0.081	<0.05
TIMP-1	0.158± 0.047	0.161± 0.032	0.163± 0.078	0.164± 0.081	NS
TIMP-2	0.162± 0.051	0.165± 0.034	0.166± 0.068	0.168± 0.092	NS

NS: 不显著 NS: non-significant.

2.4 MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1 和 TIMP-2 的 mRNA 的表达与乳腺癌的淋巴结转移之间的关系
无淋巴结转移[N0 (n=57)]时, MMP-2, MMP-7, MMP-9, 和 MT1-MMP 的 mRNA 的表达分别为 0.243 ± 0.035, 0.293 ± 0.031, 0.351 ± 0.032, 0.141 ± 0.035。MMP-2, MMP-7, MMP-9, 和 MT1-MMP 的 mRNA 的表达伴随淋巴结转移的进展而显著增加。(P < 0.05) 对于乳腺癌不同的淋巴结转移来说, TIMP-1 和 TIMP-2 mRNA 表达无显著差异。

表 3 淋巴结转移和 MMPs 和 TIMPs mRNA 的表达之间的关系

Table 3 Relationship between lymph node metastasis and the expression of MMPs and TIMPs mRNA

	淋巴结转移 Lymph node metastasis				P 值(P value)
	N0 (n=57)	N1 (n=61)	N2 (n=21)	N3 (n=11)	
MMP-2	0.243± 0.035	0.504± 0.028	0.581± 0.046	0.650± 0.070	<0.05
MMP-7	0.293± 0.031	0.554± 0.025	0.636± 0.055	0.723± 0.066	<0.05
MMP-9	0.351± 0.032	0.693± 0.030	0.800± 0.048	0.878± 0.072	<0.05
MT1-MMP	0.141± 0.035	0.352± 0.029	0.431± 0.052	0.502± 0.086	<0.05
TIMP-1	0.159± 0.028	0.161± 0.021	0.162± 0.056	0.163± 0.068	NS
TIMP-2	0.163± 0.032	0.165± 0.027	0.166± 0.066	0.167± 0.077	NS

NS: 不显著 NS: non-significant.

2.5 MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1 和 TIMP-2 的 mRNA 的表达与乳腺癌组织学类型之间的关系
MMP-7 和 MT1-MMP 的 mRNA 的表达水平, 在各型乳腺癌中存在显著差异。(P < 0.05) 对于不同的乳腺癌组织学类型来说, MMP-2, MMP-9, TIMP-1 和 TIMP-2 mRNA 表达无显著差异。

表 4 组织学类型和 MMPs 和 TIMPs mRNA 的表达之间的关系

Table 4 Relationship between histological type and the expression of MMPs and TIMPs mRNA

	组织学类型 Histological type			P 值(P value)
	Ductal (n=128)	Lobular (n=8)	Other (n=14)	
MMP-2	0.431± 0.019	0.435± 0.069	0.435± 0.046	NS
MMP-7	0.422± 0.022	0.695± 0.077	0.813± 0.056	<0.05
MMP-9	0.580± 0.021	0.587± 0.063	0.591± 0.057	NS
MT1-MMP	0.251± 0.025	0.598± 0.065	0.519± 0.049	<0.05
TIMP-1	0.160± 0.043	0.165± 0.089	0.167± 0.063	NS
TIMP-2	0.164± 0.057	0.169± 0.105	0.168± 0.056	NS

NS: 不显著 NS: non-significant.

3 讨论

乳腺癌是一个具有高侵袭和转移潜能的上皮性肿瘤。肿瘤的生长, 侵袭和转移是一个多步骤的过程, ECM 和基底膜成分的蛋白降解会加速该过程。许多已公布的实验和临床研究已证

明了基质金属蛋白酶在此过程中的作用。在人类肿瘤中, 基质金属蛋白酶的表达在绝大部分良性组织中是比较低的, 但是在大多数恶性肿瘤中显著增加, 如胰腺癌和前列腺癌。

在本研究聚焦于乳腺癌标本中人类 MMPs 和 TIMPs 的表达分析。根据我们的研究, MMP-2, MMP-7, MMP-9,

MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 在乳腺癌组织中的 mRNA 表达平均值明显高于正常乳腺组织($P < 0.05$)。就乳腺癌肿瘤大小和淋巴结转移而言, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP mRNA 的表达水平存在显著差异。就乳腺癌组织学类型而言, MMP-7 和 MT1-MMP mRNA 的表达水平存在显著差异。

已有研究表明, 对于脉管侵袭和癌症转移来说, MMP-2, MMP-2 和 MMP-9 在消化基底膜 IV 型胶原方面所起到的作用是一个重要的机制^[5,7]。因为其具有降解基底膜的能力, MMP-2 被假定为肿瘤进展和预后的潜在标志物。免疫组化的 MMP-2 染色与淋巴结转移, 浸润深度和远距转移显著相关^[4]。癌细胞中高的 MMP-2 表达与少数预后因素有关^[8,9]或被证明与乳腺癌患者临床病理参数无关联(患者年龄, 肿瘤分级, 肿瘤的受体状况, 病期)^[10-12]。MMP-9 不仅能降解 IV 型胶原及纤维粘连蛋白等基底膜和细胞外基质成分, 而且还对肿瘤细胞的黏附能力有影响, 在肿瘤的生长、浸润、转移过程中发挥重要作用^[13,14]。高的 MMP-9 表达与不良预后和肿瘤侵袭性显著相关^[15-18]。国内进行乳腺癌组织中基质金属蛋白酶活性测定的研究显示, 乳腺癌组织中 MMP-2、MMP-9 的活性显著高于纤维腺瘤; 乳腺癌患者中, 浸润性癌及淋巴结转移组的 MMP-2、MMP-9 的活性显著高于非浸润性癌及无淋巴结转移组, 从而证实 MMP-2、MMP-9 的活性部分与乳腺癌的浸润转移有关^[19]。本研究显示乳腺癌中位 MMP-2 和 MMP-9 的 mRNA 表达明显高于在正常乳房组织($P < 0.05$), 伴随肿瘤扩大和淋巴结转移, MMP-2 和 MMP-9 的 mRNA 表达显著增加。

MMP 家族的成员, 包括 MMP-7, 在几种类型的癌症中过度表达, 并被证明与肿瘤侵袭和转移有关^[20]。Jian 等人发现在人类乳腺癌中 MMP-7 的表达异常并且 MMP-7 的消除与肿瘤生长缓慢和低侵袭性相关^[21]。Wang 等人发现 MMP-7 在乳腺癌细胞(MCF-7)的过度表达可增强细胞的浸润和前 MMP-2 和 MMP-9 的活化^[22]。本研究表明 MMP-7 的表达与肿瘤大小, 淋巴结转移, 乳腺癌的组织学类型密切相关。

在一个最近建立的含有跨膜序列的基质金属蛋白酶家族中, 作为第一个成员的 MT1-MMP 被证明在细胞膜的 MMP-2 活化过程中起到重要作用, 而且它的过度表达对于肿瘤的增长也起到了明显功效^[3]。Tetu 等人发现 MT1-MMP 的 mRNA 增加是乳腺癌患者不良预后的独立预测因素^[23]。本研究发现乳腺癌的 MT1-MMP 的 mRNA 表达明显高于正常乳腺组织($P < 0.05$)。MT1-MMP 的 mRNA 的表达水平会随着肿瘤大小, 淋巴结转移, 和乳腺癌病理类型等因素的增加而增加。

在肿瘤浸润的背景下, 蛋白酶抑制剂(TIMPs)的原始概念是抑制基质金属蛋白酶, 从而作为抗浸润剂或抗转移剂使用的。据报道, TIMPs 曾在小鼠肿瘤模型和人类肿瘤(体内和体外)中作为 MMPs 的负调节剂使用^[24]。然而, 在另外一个使用临床组织样本的研究中, Shim 等人发现肿瘤组织中 TIMP 的 mRNA 表达较高^[3]。在对各种癌症的研究中, 包括头部和颈部, 大肠癌, 胃癌和胰腺癌, MMPs 和 TIMPs 与肿瘤转移和侵袭潜在性增长相关。一些专家发现 TIMP-1, TIMP-2 和其他几个肿瘤侵袭指示参数与肿瘤远距转移高发性显著相关^[25-28]。本研究显示乳腺癌中的 TIMP-1 和 TIMP-2 的 mRNA 表达明显高于正常乳腺组织($P < 0.05$), 就乳腺癌临床病理参数而言 TIMP-1 和

TIMP-2 的 mRNA 表达没有显著差异。

综上所述, 在乳腺癌中 MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1, TIMP-2 的 mRNA 表达明显高于正常乳腺组织。在预测乳腺癌侵袭行为方面, MMP-2, MMP-7, MMP-9 和 MT1-MMP 表达增加与临床病理参数之间的关联将起到一定作用。

参考文献(References)

- [1] Schwartz GK. Invasion and metastases in gastric cancer: in vitro and in vivo models with clinical correlations[J]. Semin Oncol, 1996, 23: 316-324
- [2] Kohn EC, Liotta LA. Molecular insights into cancer invasion: strategies for prevention and intervention[J]. Cancer Res, 1995, 55: 1856-1862
- [3] Shim KN, Jung SA, Joo YH, et al. Clinical significance of tissue levels of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in gastric cancer[J]. J Gastroenterol, 2007, 42: 120-128
- [4] Curran S, Murray GI. Matrix metalloproteinase in tumour invasion and metastasis[J]. Pathol, 1999, 189: 300-308
- [5] Monig SP, Baldus SE, Hennecken JK, et al. Expression of MMP-2 is associated with progression and lymph node metastasis of gastric carcinoma[J]. Histopathology, 2001, 39: 597-602
- [6] Edge SB, Byrd DR, Compton CC. AJCC cancer staging manual 7th ed [M]. New York: Springer, 2010
- [7] Sier CF, Kubben FJ, Ganesh S, et al. Tissue levels of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 are related to the overall survival of patients with gastric carcinoma[J]. Cancer, 1996, 74: 413-417
- [8] Talvensaaari-Mattila A, Paakko P, Hoyhtya M, et al. Matrix metalloproteinase-2 immunoreactive protein: a marker of aggressiveness in breast carcinoma[J]. Cancer, 1998, 83: 1153-1162
- [9] Nakopoulou L, Tsimpa I, Alexandrou P, et al. MMP-2 protein in invasive breast cancer and the impact of MMP-2/TIMP-2 phenotype on overall survival[J]. Breast Cancer Res Treat, 2003, 77: 145-155
- [10] Jones JL, Glynn P, Walker RA. Expression of MMP-2 and MMP-9, their inhibitors, and the activator MT1-MMP in primary breast carcinomas[J]. J Pathol, 1999, 189: 161-168
- [11] Hirvonen R, Talvensaaari-Mattila A, Paakko P, et al. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in T(1-2)N0 breast carcinoma[J]. Breast Cancer Res Treat, 2003, 77(1): 85-91
- [12] Talvensaaari-Mattila A, Paakko P, Turpeenniemi-Hujanen T. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) is associated with survival in breast carcinoma[J]. Br J Cancer, 2003, 89: 1270-1275
- [13] 杨少奇, 李西梅, 何芳, 等. OPN、MMP-9 在胰腺癌及其侵袭转移中的表达[J]. 宁夏医学杂志, 2009, 31(12): 1092-1094
- [14] 孙晓杰, 王淑英, 李坤, 等. P13Kp55 γ 调节亚基 N 末端对乳腺癌细胞增殖和侵袭能力的影响[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2009, 16(12): 881-884
- [15] Sun Xiao-jie, Wang Shu-ying, Li Shen, et al. Influence of the N-terminal of the p55 γ regulatory subunit of phosphoinositide-3 kinase on proliferation and invasiveness in breast cancer cells[J]. Chin

- J Cancer Prev Treat, 2009, 16(12): 881-884
- [15] Chantrain CF, Shimada H, Jodele S, et al. Stromal matrix metalloproteinase-9 regulates the vascular architecture in neuroblastoma by promoting pericyte recruitment[J]. Cancer Res, 2004, 64: 1675-1686
- [16] Li HC, Cao DC, Liu Y, et al. Prognostic value of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in patients with lymph node-negative breast carcinoma[J]. Breast Cancer Res Treat, 2004, 88: 75-85
- [17] Pellikainen JM, Ropponen KM, Kataja VV, et al. Expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in breast cancer with a special reference to activator protein-2, HER2, and prognosis[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10: 7621-7628
- [18] Figueira RC, Gomes LR, Neto JS, et al. Correlation between MMPs and their inhibitors in breast cancer tumor tissue specimens and in cell lines with different metastatic potential[J]. BMC Cancer, 2009, 9: 20-26
- [19] 陈军.抗肿瘤热敏靶向脂质体的研究进展[J]. 药学报, 2011, 5(5): 502-506
- Chen Jun. Development of targeting thermosensitive liposomes for tumor treatment[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2011, 5(5): 502-506
- [20] Stetler-Stevenson WG, Liotta LA, Kleiner DE Jr. Extracellular matrix 6: role of matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis [J]. FASEB J, 1993, 7: 1434-1441
- [21] Jian WG, Davies G, Martin TA, et al. Targeting matrilysin and its impact on tumor growth in vivo: the potential implications in breast cancer therapy[J]. Clinical Cancer Res, 2005, 11: 6012-6019
- [22] Wang F, Reierstad S, Fishman DA. Matrilysin over-expression in MCF-7 cells enhances cellular invasiveness and pro-gelatinase activation[J]. Cancer Lett, 2006, 236: 292-301
- [23] Tetu B, Brisson J, Wang CS, et al. The influence of MMP-14, TIMP-2 and MMP-2 expression on breast cancer prognosis[J]. Breast Cancer Res, 2006, 8: R28
- [24] Khokha R, Waterhouse P, Yagel S, et al. Antisense RNA-induced reduction in murine TIMP levels confers oncogenicity on Swiss 3T3 cells[J]. Science, 1989, 243: 947-950
- [25] Ree AH, Florenes VA, Berg JP, et al. High levels of messenger RNAs for tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1 and TIMP-2) in primary breast carcinomas are associated with development of distant metastases[J]. Clin Cancer Res, 1997, 3: 1623-1628
- [26] Remacle A, McCarthy K, Noel A, et al. High levels of TIMP-2 correlate with adverse prognosis in breast cancer [J]. Int J Cancer, 2000, 89: 118-121
- [27] Schroll AS, Holten-Andersen MN, Peters HA, et al. Tumor tissue levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 as a prognostic marker in primary breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10: 2289-2298
- [28] Vizoso FJ, Gonzalez LO, Corte MD, et al. Study of matrix metalloproteinases and their inhibitors in breast cancer[J]. Br J Cancer, 2007, 96: 903-911

(上接第 5619 页)

- [10] de Bartolomeis A, Tomasetti C. Calcium-dependent networks in dopamine-glutamate interaction: the role of postsynaptic scaffolding proteins[J]. Mol Neurobiol, 2012, 46(2): 275-296
- [11] Hossain MI, Kamaruddin MA, Cheng HC. Aberrant regulation and function of Src family tyrosine kinases: their potential contributions to glutamate-induced neurotoxicity [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2012, 39(8): 684-691
- [12] Ma J, Zhang GY, Liu Y, et al. Lithium suppressed Tyr-402 phosphorylation of proline-rich tyrosine kinase (Pyk2) and interactions of Pyk2 and PSD-95 with NR2A in rat hippocampus following cerebral ischemia[J]. Neurosci Res, 2004, 49(4): 357-362
- [13] Ma J, Zhang GY. Lithium reduced N-methyl-D-aspartate receptor subunit 2A tyrosine phosphorylation and its interactions with Src and Fyn mediated by PSD-95 in rat hippocampus following cerebral ischemia[J]. Neurosci Lett, 2003, 348(3): 185-189
- [14] Deng Q, Terunuma M, Fellin T, et al. Astrocytic activation of A1 receptors regulates the surface expression of NMDA receptors through a Src kinase dependent pathway [J]. Glia, 2011, 59 (7): 1084-1093
- [15] Zhou X, Hollern D, Liao J, et al. NMDA receptor-mediated excitotoxicity depends on the coactivation of synaptic and extrasynaptic receptors[J]. Cell death and disease, 2013, 4: e560
- [16] Redmile-Gordon MA, Armenise E, White RP, et al. A comparison of two colorimetric assays, based upon Lowry and Bradford techniques, to estimate total protein in soil extracts [J]. Soil Biol Biochem, 2013, 67(100): 166-173
- [17] Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. Nature, 1970, 227(5259): 680-685
- [18] Sanz-Clemente A, Nicoll RA, Roche KW. Diversity in NMDA receptor composition: many regulators, many consequences [J]. Neuroscientist, 2013, 19(1): 62-75
- [19] Andrei B. Belousov. Novel model for the mechanisms of glutamate-dependent excitotoxicity: role of neuronal gap junctions [J]. Brain research, 2012, 1487: 123-130
- [20] Szydlowska K, Tymianski M. Calcium, ischemia and excitotoxicity [J]. Cell Calcium, 2010, 47(2): 122-129
- [21] Romero G, Zastrow M, Friedman PA. Role of PDZ proteins in regulating trafficking, signaling, and function of GPCRs: means, motif, and opportunity [J]. Advances in Pharmacology, 2011, 62: 279-314
- [22] de Bartolomeis A, Tomasetti C. Calcium-dependent networks in dopamine-glutamate interaction: the role of postsynaptic scaffolding proteins[J]. Mol Neurobiol, 2012, 46(2): 275-296
- [23] Dai S, Hall DD, Hell JW. Supramolecular assemblies and localized regulation of voltage-gated ion channels[J]. Physiol Rev, 2009, 89(2): 411-452
- [24] Wang WW, Hu SQ, Li C, et al. Transduced PDZ1 domain of PSD-95 decreases Src phosphorylation and increases nNOS (Ser847) phosphorylation contributing to neuroprotection after cerebral ischemia[J]. Brain research, 2010, 1328: 162-170