

· 专论与综述 ·

与癌症相关的 G 蛋白偶联受体及通路的研究进展 *

刘晓昕¹ 何玲^{1△} 严明² 张陆勇² 胡梅¹

(1 中国药科大学药理学教研室 江苏 南京 210009 2 中国药科大学新药筛选中心 江苏 南京 210009)

摘要 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)是一类重要的细胞膜表面跨膜蛋白受体超家族,具有 7 个跨膜螺旋结构。GPCRs 的细胞内信号由 G 蛋白介导,可将激素、神经递质、药物、趋化因子等多种物理和化学的细胞外刺激穿过细胞膜转导到细胞内不同的效应分子,激活相应的信号级联系统进而影响恶性肿瘤的生长迁移过程。虽然目前药物市场上有很多治疗癌症的小分子药物属于 G 蛋白受体相关药物,但所作用的靶点集中于少数特定 G 蛋白偶联受体。因此,新的具有成药性的 G 蛋白偶联受体的开发具有很大的研究价值和 market 潜力。本文主要以在癌症发生、发展中起重要作用的溶血磷脂酸(LPA) G 蛋白偶联受体 30(GPR30)、内皮素 A 受体(ETAR)等不同 G 蛋白偶联受体为分类依据,综述其与相关的信号通路在癌症进程中的作用,并对相应的小分子药物的临床应用和研究进展进行展望。

关键词 G 蛋白偶联受体 癌症 靶点

中图分类号 R741.02 文献标识码 A 文章编号:1673-6273(2012)23-4545-04

The Advancement of Pathway on G Protein-coupled Receptors (GPCRs) Target to Cancer*

LIU Xiao-xin¹, HE Ling^{1△}, YAN Ming², ZHANG Lu-yong², HU Mei¹

(1 Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu, 210009, China;

2 National Drug Screen Laboratory China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu, 210009, China)

ABSTRACT: G protein-coupled receptors (GPCRs), also known as seven-transmembrane domain receptors, is a large protein family of transmembrane receptors that sense molecules such as hormone, neurotransmitters, drugs, chemotactic factors of physical and chemical extracellular signals outside the cell and activate inside signal transduction pathways and, ultimately, induce cellular responses including tumor growth, survival and migration. Many current drugs for cancer target to GPCRs, are directed towards only a few GPCR members. Therefore, huge efforts are currently underway to develop new GPCR-based drugs, particularly for cancer. This article reviews recent findings that present opportunities to interfere with major tumorigenic signals by manipulating GPCR-mediated pathways, such as lysophospholipids acid (LPA), G protein coupling receptor 30 (GPR30) and Endothelin A subtype receptor. We also discuss current drug regarding novel GPCR targets that may provide promising opportunities for drug discovery in cancer prevention and treatment.

Key words: G protein-coupled receptors; Cancer; Target

Chinese Library Classification(CLC): R741.02 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)23-4545-04

G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)是一类重要的细胞膜表面跨膜蛋白受体超家族,具有 7 个跨膜螺旋结构。GPCRs 能够将激素、神经递质、趋化因子等各种细胞外信号转导入胞内,从而在细胞功能的调节中起重要作用,包括恶性肿瘤的发生和转移。G 蛋白,即 GTP 结合蛋白(GTP-binding protein),由 α 、 β 、 γ 3 种亚基构成,其中 α 亚基变异最大,决定 G 蛋白的特异性。依据 α 亚基的不同将 G 蛋白分为 Gs、Gi、Gq 以及 G α 12/13。GPCRs 被配体激活后,在激发下游信号转导通路的同时,GPCRs 本身也会发生快速的磷酸化,作用于受体的 Ser/Thr 位点的蛋白激酶家族 cAMP 依赖的蛋白激酶(PKA)

、蛋白激酶 C(PKC) GPCRs 激酶(G protein-coupled receptor kinases, GRKs)等在此过程中扮演了重要的角色(如图 1)^[1,2]。

在 900 余种 G 蛋白中,1986 年首次发现癌症基因 MAS,可编码为 GPCR 功能性内源性配体 ANG1-7,由此得出 GPCR 可能和肿瘤发生相关。随着研究的深入,发现 GPCR 过表达现象普遍存在于非小细胞性肺癌、乳腺癌、胃癌、前列腺癌和黑色素瘤等多类癌症中。进一步的研究表明,GPCRs 如炎症趋化因子(chemocine)、前列腺素受体(Prostaglandin receptors, PG)、溶血磷脂酸(Lysophosphatidic acid, LPA)、血栓素(Thrombin)、内皮素、凝血酶等在炎性和非炎性癌症的转移和血管发生中起着重

* 基金项目 国家 "十二五" 重大新药创制专项 " 新型 G 蛋白偶联受体靶向药物筛选体系建立

及其关键技术研究 "(No.2012ZX09504001-001);

作者简介 刘晓昕(1988-),女,硕士研究生,主要研究方向:神经药理,电话:15150646662,

E-mail kiki_comic@yahoo.com.cn

△通讯作者:何玲,教授,研究方向:神经药理,Email hexyz@163.com

(收稿日期:2012-04-25 接受日期:2012-05-20)

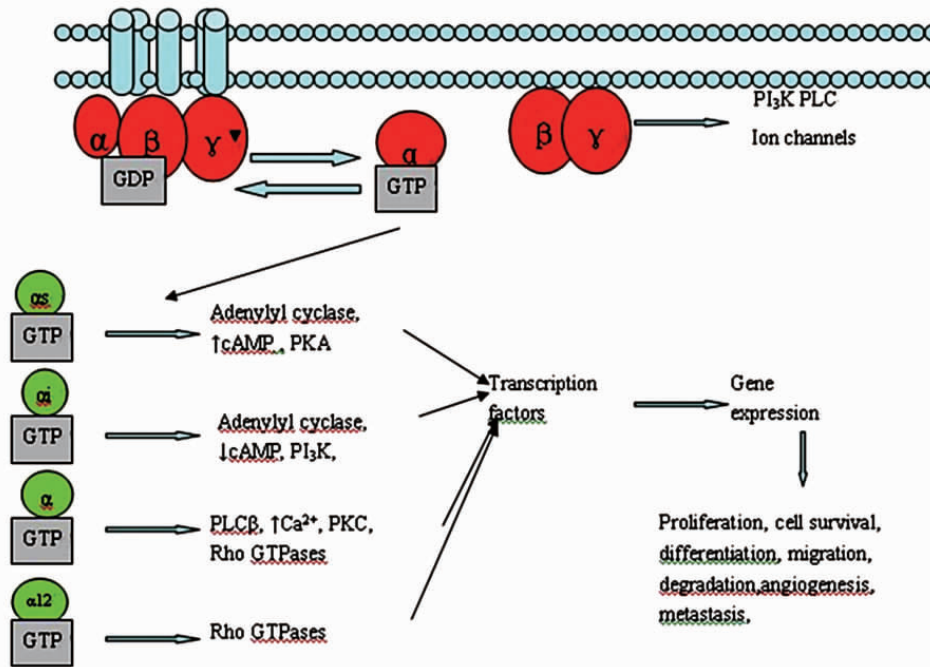


图 1 G 蛋白偶联受体分类及作用机理

Fig. 1 Classification and mechanism of G-protein-coupled receptor

要作用:如内皮素受体在结肠癌、前列腺癌和黑色素瘤中高表达,前列腺素受体在乳腺癌、结肠癌和前列腺癌中高表达,趋化因子受体在肺癌和胰腺癌中高表达。在 2005 年,英国曼彻斯特大学 Kuliopulos 教授在 Cell 上发表文章指出,属于 GPCR 家族的蛋白酶活化受体 1 (Protease-activated receptors, PAR1) 是乳腺癌细胞浸润和迁移的必需因子, PAR1 可被凝血酶激活,使蛋白被水解,从而激活 EGFR 信号通路,引起癌症细胞的侵袭和肿瘤的生长^[3]。

上述 GPCRs 可以和很多因子发生相互作用:比如 EGFR, VEGFR 等可以激活相应的 GPCRs 受体,而 GPCRs 亦可间接激活 (Transactivation) EGFR,二者的相互作用涉及包括 ERK, Janus 蛋白酪氨酸激酶 (JAK)/ 信号转导和转录激活子 1 (STAT1) 和 PI3K 在内的很多胞内通路,也可直接作用于 NF-κ B, p53 等突变基因或是过度活化与干细胞生长密切相关的 Hedgehog 信号传导通路,从而在肿瘤生长、转移、血管生成,以及细胞的凋亡起着重要作用。

1 溶血磷脂酸

在溶血磷脂酸 (Lysophosphatidic acid, LPA) 磷酸化的受体中, LPA1-LPA6 属于 GPCR 家族。LPA 引起的生物活性包括癌细胞的增值、侵袭、迁移、血管发生。LPA 及其受体异常的表达,可有效的促进细胞的有丝分裂导致癌症的发生和发展。如在乳腺癌和卵巢癌细胞中, LPA 可以通过 Rho 转导通路诱导癌细胞的侵袭^[4]。大约 50% 的肿瘤中存在 p53 突变,但在肿瘤细胞里发现的和 p53 相关的通路却常常找不到突变的 p53 基因。LPA 可通过 p53 调节肿瘤细胞的凋亡,如激活 GRK5 能显著增强 β-arrestin 与肿瘤抑制因子 p53 的负调控蛋白 Mdm2 的相互作用,降低 Mdm2 自身的泛素化以及 Mdm2 介导的 p53 降解及泛素化,从而调节了 p53 介导的细胞凋亡作用, LPA 可以降低

胞内 p53 的数量,改变 p53 的位置,从而阻止肺癌细胞的凋亡。LPA 可通过激活细胞核转录因子 (NF-κ B),以剂量和时间依赖的方式促进基质细胞 IL-8 的表达, IL-8 具有增强血管移行、通透性和毛细血管的形成以及人微血管内皮细胞增殖的功能,从而介导炎症和癌症。NF-κ B 介导抗凋亡或是凋亡通路,完全取决于刺激原的种类和所处的微环境。有实验证明,血管紧张素可通过 NF-κ B 参与胃癌细胞的增值,缓激肽则可通过 NF-κ B 参与软骨瘤细胞的迁移。由以上研究可看出, LPA 具有可以成为抗肿瘤药物靶点的潜力。

LPA 结构类似物的生物活性已经被发现可以被用来作为受体拮抗剂对抗磷酸酶、酰基转移酶、脂肪酶^[5]。LPA 可由肿瘤产生相关的自分泌因子溶血磷脂酶 D 的溶血磷脂胆碱产生,此途径为 LPA 产生的主要途径。这条途径不仅可以正调节肿瘤侵袭和转移,还可以被 LPA 反馈抑制^[6]。因此,理想的以 LPA 级联为靶点的抗肿瘤药物应该同时废除 LPA 相关的 GPCRs 和自分泌运动因子运动产生的 LPA。BRP-LPA 可以抑制 LPA1-LPA4 的活性,也可抑制导致细胞的迁徙和侵占的自分泌因子活动。在肺癌移植模型中, BRP-LPA 显著抑制了肿瘤的生长和血管发生。最近研究表明, BRP-LPA 的立体异构体不但抑制自分泌因子运动,而且可拮抗 5 种 LPA 受体,阻止了乳腺癌细胞的迁移和侵袭^[7]。

2 G 蛋白偶联受体 30

G 蛋白偶联受体 30 (G protein-coupled receptor 30, GPR30) 广泛表达于人体正常组织,包括心脏、脑、胎盘、肺、肝脏、肾脏、骨骼肌等,近来许多研究也在恶性肿瘤组织:乳腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌中发现有 GPR30 过表达,从而证明 GPR30 参与恶性肿瘤的发生发展^[8]。

Thomas 等发现在传统核受体 ERα、ERβ mRNA 或蛋白表

达缺失的乳腺癌细胞株 SKBR3 中,其细胞膜上存在 GPR30 表达并表现出对用 3H 标记的 17 β -雌二醇(E2)的高亲和力特异性结合。GPR30 与 E2 的作用模式和效应与 ER α 、ER β 均有不同,且与二者并没有同源性。雌激素可通过金属蛋白酶 MMPs 促使细胞表面释放肝素结合性表皮生长因子(Heparan-bound epidermal growth factor,HB-EGF),HB-EGF 间接活化 EGFR,进而激活促分裂素活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinases, MAPK),快速活化细胞外信号调节激酶 ERK 并上调 c-fos 的表达促进多种肿瘤细胞的生长与增殖^[9]。近来的研究表明,17 β -雌二醇和 4-羟泰米芬(4-hydroxytamoxifen),可以激活 MMPs 和生长因子 EGFR,从而影响肿瘤的增长,同时 E2 可以对 GPR30 和磷酸化的 EGFR 的交互反应进行诱导,并影响 GPR30 和磷酸化的 EGFR 对细胞周期蛋白 D1 的启动子的募集反应,由此推测 GPR30 可能是与癌症相关成纤维细胞的转录因子,是很有潜力的抗肿瘤靶点。有研究证实环境雌激素双酚 A 与 GPR30 结合可使肿瘤细胞抗凋亡蛋白表达增加,导致乳腺癌细胞对化疗药物的耐受^[10],由此证明,有效抑制雌激素产生的对 GPCR 和生长因子的激活作用,是潜在的抗肿瘤药物开发的方向之一。

3 内皮素 A 受体

Endothelin 家族由三种异构体组成,ET-1、ET-2 和 ET-3,这些多肽通过与上皮素受体结合而起作用。Endothelin-1 在长效血管收缩中起作用,内皮素 A 受体(Endothelin A subtype receptor,ETAR)则可以调节内皮素-1(Endothelin-1,ET-1)导致肿瘤细胞的增值及血管生成其受体 EDNRB 与 G 蛋白相互作用,从而激活磷脂酰肌醇介导的钙信号系统;在黑色素瘤中,EDNRB 通过与 ET-1/3 相互作用而促进肿瘤的生长。ETAR 拮抗剂 ZD4054 在肿瘤细胞和动物移植肿瘤模型中皆可抑制肿瘤细胞的生长。初步的临床试验显示 ZD4054 和 EGFR 抑制剂吉非替尼(Gefitinib)联用,可以强烈抑制卵巢癌细胞的增值和侵入^[11]。在横纹肌肉瘤细胞中 ZD4054 逆转 ET-1 介导的病灶处的粘着斑激酶(Focal adhesion kinase,FAK)及 FAK 下游的桩蛋白(Paxillin)的磷酸化作用,从而抑制这些粘着因子造成的肿瘤侵袭^[12]。对 ZD4054 的单用治疗或者和细胞毒类药物联用治疗都已进入临床二期试验阶段。

在乳腺癌细胞中,由 ETAR 和人类 EGFR2(HER2)引起的对肿瘤细胞的刺激生长作用,可被 ETAR 拮抗剂阿曲生坦(Atrasentan)和 HER2 特定单抗曲妥珠单抗(Herceptin)所抑制,二者联用的效果要远远高于其中任何一种单独用药^[13]。但阿曲生坦和细胞毒性药物合用是否会提高抗肿瘤的药效还有待临床验证。由现有的实验来看,内皮素 A 和 GPCR 的相互作用可能可以成为抗肿瘤的新靶点。

4 Smoothened 受体

Smoothened 受体是一个七次跨膜蛋白,其配体为 Sonic hedgehog。Hedgehog 配体蛋白,以及 12 次跨膜的膜结合受体 Ptch 蛋白家族和 7 次跨膜信号转导蛋白 Smo 家族组成了 Hedgehog (HH) 信号通路。此通路参与了正常的胚胎发育过程以及创伤性组织的修复,特别是干细胞的自我更新,在组织的

修复中发挥着开启正常干细胞自我更新的功能,但过度激活却可诱使正常干细胞转化成癌细胞以及一系列原癌基因异常的激活以及抑癌基因突变导致的失活,进而引起一些信号传导通路的异常,最终导致癌症的发生、增殖、浸润及转移^[25]。HH 信号通路异常活化在包括基底细胞癌、乳腺癌、前列腺癌和一些消化系统恶性肿瘤的生发展过程都起了重要作用^[14]。当 HH 分泌的配体,比如 SHH 缺失时,PTC 可抑制 Smp 的活动,Ptch 和配体的结合可导致 Smo 的抑制。Smo 的激活最终引起锌指样转录因子 Gli 活化,转录因子 Gli 家族与 fused(Fu)、costal-2 (Cos2)等蛋白结合,Gli 被蛋白水解酶水解并释放其片段即转录抑制蛋白,可抑制目的基因的转录。目的基因包括 PTC 和 Gli 自身、细胞周期蛋白以及与血管发生有关的基因如 VEGF 等,从而普遍影响不同肿瘤中增值和细胞凋亡作用^[15],如家族性肿瘤基底细胞痣综合征(basal cell nevus syndrome,BCNS),就是由于人 Ptch 基因的突变使该家族成员成为 BCNS 的高发人群。

HH 信号通路的阻断剂环钆明(Cyclopamin),可以特异结合并抑制该通路的成员 SMO,在体外试验中抑制了胃癌细胞的生长。但环钆明不稳定,水溶性差。由此改进的 Cyclopamine 半合成类似物 IPI-926,目前有望进一步进入临床试验。在对 Hedgehog 信号通路依赖的成神经管细胞瘤移植瘤模型中,小鼠口服 IPI-926(40 mg/kg)可使肿瘤完全消退^[16]。KAAD-Cyclopamin 可减弱肝癌细胞的能动性 and 侵袭性,和 TNF 凋亡诱导配体(TRAIL)合用,可对抗 TRAIL 耐药神经细胞株^[17]。

新 Smo 拮抗剂 BMS-833923 已进入临床一期实验,适用于黑色素瘤、基底细胞癌、食道癌、小细胞肺癌细胞病人,HH 拮抗剂 GDC-0449 在早期的研究中可抑制 HH 通路的突变,取的预期的疗效,但在临床期,有髓母细胞瘤病人在最初的迅速好转后病情发生反复。病人体内的 Smo 蛋白发生突变,虽然并不影响原先的作用靶点 HH 信号系统,但是可以阻止 GDC-0449 和 Smo 结合,导致药效丧失^[18]。因此,在病人对以 HH 通路为靶点的药物产生耐药性后,Smo 突变可被参考为依赖 HH 通路的药物肿瘤治疗效果不佳,再次恶化的机制,从而以 Smo 及其下游 Gli 转录因子作为新的药物靶点。

临床显示,固醇类化合物维生素 D3 能以高亲和力结合 Smo 上的 cyclopamine 结合位点,被发现能抑制 Smo 活性和其下游的 Hedgehog 信号通路中 Gli 的活性,从而抑制细胞生长。Smo 抑制剂 IPI-926 和 GDC-0449 和细胞毒性药物结合,可以用于临床上多种类不宜手术的病人,Smo 下游 Gli 转录因子的抑制剂,如 GANT58,GANT60,GANT61。GANT61 能有效地降低 Gli2 的表达,从而降低膀胱癌中癌细胞的侵袭能力^[19]。GANT58,GANT60 可能可用于对 Smo 拮抗剂产生耐药性的病人,但这两种抑制剂目前只在临床前实验中证明有效。

5 Frizzled

经典的 Wnt 通路传导模式一般是:细胞外的 Wnt 蛋白通过 Wnt 配体(Wnts)和细胞膜上 G 蛋白偶联受体 FZD(G-protein coupled Frizzled,FZD)反应,二者结合后再与低密度脂蛋白受体相关蛋白(Low-density lipoprotein-receptor-related protein,LPR)中的 LRP5 和 LRP6 反应启动信号,通过磷酸化反应激活

细胞浆内的 Dsh 蛋白,抑制 GSK3 β -axin-APC β 复合物对 β -catenin 的磷酸化。Wnt 通路中胞浆内未被磷酸化的 β -catenin 转入核中,与 TCF/LEF 因子共同作用,激活靶基因的转录,从而调节细胞分化和增值相关基因以及干细胞的自我更新和分化^[20]。一些肿瘤可以通过旁分泌或是自分泌方式释放 Wnts,在 Wnts 中,G 蛋白偶联受体 FZD 高表达于结肠癌、肝细胞癌、卵巢癌、前列腺癌等多种肿瘤的新生组织中,且可通过经典和非经典的 WNT 通路中,影响肿瘤细胞的生长、存活、侵袭、转移能力从而影响肿瘤恶变进程。在乳腺癌中,Wnt/FZD 受体 LRP6 受体沉默,可抑制 WNT 通路和乳腺癌细胞的增殖^[21]。

基于 Wnt/FZD 在肿瘤中的作用,其抑制剂是否可以成为抗肿瘤新型药物的研究正在进行中,已有药物类黄酮槲皮素(Flavonoid quercetin),利尿剂依地尼酸(Diuretic agent ethacrynic acid)可抑制 Wnt- β -catenin 通路^[22],药物噻唑啉二酮类(Thiazolidinediones)可减少乳腺癌细胞 FZD1 和 LRP6 表达和 DNA 合成从而产生抗肿瘤作用。因此,以 Wnt- β -catenin 为靶点的抑制剂是一种潜在的治疗各类肿瘤的靶点,随着研究的不断深入,表明 HH 和 WNT 相关的 GPCR 与肿瘤的发生和形成相关,期待在后面的体内试验中能证明此通路为有效靶点。

除了单独的 GPCR,一些生长因子也在肿瘤的发生过程中起着重要作用,如胰岛素生长因子家族中的胰岛素生长因子受体 I(Insulin-like growth factor I,IGF-I)作为强有力的促有丝分裂因子可直接作用于细胞而诱导细胞的分裂增殖,从而大大增加肿瘤的发生几率^[23]。胰岛素和 IGF-I 都可通过 PI3K-AKT-mTOR 转导通路,增强 GPCR 的活性,负调控其下游的 mTOR 信号分子,导致与增殖相关的蛋白分子合成被抑制从而抑制癌细胞的生长^[24]。型胰岛素治疗药物二甲双胍(Metformin)可使活化磷酸化的 AMPK 的蛋白表达增加,进而可通过 PI3K-AKT-mTOR 转导通路抑制癌细胞生长^[25]。在胰腺癌中,二甲双胍不仅通过与 G 蛋白偶联受体和胰岛素受体信号通路交叉对话作用,同时抑制两条信号通路,还可同时成剂量依赖效应活化 caspase-3、caspase-8、caspase-9,裂解 DNA 修复酶 PARP (poly ADP-ribose polymerase)使其经加工后呈活化形式,阻止胰岛素产生所必需的 DNA 合成,进一步的诱导胰腺癌细胞凋亡^[26]。最新的研究显示,临床上二甲双胍可以作用于乳腺癌干细胞上皮和间质间的转化,阻断干细胞 70 的形成^[27]。由此推论出,同时作用于酪氨酸激酶(EGFR,IGFIR)和 GPCRs 靶点的药物将有望成为新的抗肿瘤药物。

6 结语

癌症的发病机制复杂,至今尚未完全清楚,也未开发出治愈性的药物。目前,人们对癌症的治疗主要还是以手术切除为主。因此,作用于 GPCR 的药物,正成为研发治疗癌症药物的新方向。笔者所在课题组基于国家“十二五”重大新药创制专项“新型 G 蛋白偶联受体靶向药物筛选体系建立及其关键技术研究”已成功建立高表达 Frizzled 蛋白的转染细胞株并建立此细胞株的稳定高通量筛选模型。由于 GPCR 种类众多,故作用于 GPCR 药物的选择性及相关的信号反馈回来的存在也成为研究中需要解决的问题之一。随着对人类基因组信息,越来越多与疾病相关的特异受体亚型被识别和确认,以及更灵敏、可

靠的生物学检测方法的建立,这些必将为针对 GPCRs 的药物开发提供广阔前景。

参考文献(References)

- [1] Young D, Waitches G, Birchmeier C, et al. Isolation and characterization of a new cellular oncogene encoding a protein with multiple potential transmembrane domains[J]. Cell,1986,45:711-719
- [2] Li S, Huang S, Peng SB. Overexpression of G protein-coupled receptors in cancer cells: involvement in tumor progression [J]. Int J Oncol,2005,27(5):1329-1339
- [3] Adams MN, Ramachandran R, Yau MK, et al. Structure, function and pathophysiology of protease activated receptors [J]. Pharmacol Ther, 2011,130(3):248-282
- [4] Oyesanya RA, Greenbaum S, Dang D, et al. Differential requirement of the epidermal growth factor receptor for G protein-mediated activation of transcription factors by lysophosphatidic acid[J]. Mol Cancer, 2010,8(9):1-13
- [5] Prestwich GD, Gajewiak J, Zhang HL, et al. Phosphatase-resistant analogues of lysophosphatidic acid: agonists promote healing, antagonists and autotaxin inhibitors treat cancer[J]. Biochim Biophys, 2008,1781(9):588-594
- [6] Van Meeteren LA, Ruurs P, Christodoulou E, et al. Inhibition of autotaxin by lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate [J]. Biol Chem,2005,280:21155-21161
- [7] Xu X, Prestwich GD. Inhibition of tumor growth and angiogenesis by a lysophosphatidic acid antagonist in an engineered three-dimensional lung cancer xenograft model[J]. Cancer,2010,116(7):1739-1750
- [8] Prossnitz ER, Arterburn JB, Smith HO, et al. Estrogen signaling through the transmembrane G protein-coupled receptor GPR30 [J]. Annu Rev Physiol, 2008,70:165-190
- [9] Chan QK, Lam HM, Ng CF, et al. Activation of GPR30 inhibits the growth of prostate cancer cells through sustained activation of Erk1/2, c-jun/c-fos-dependent upregulation of p21, and induction of G2 cell-cycle arrest[J]. Cell Death Differ,2010,17(9):1511-1523
- [10] Lapensee EW, Tuttle TR, Fox SR, et al. Bisphenol A at low nanomolar doses confers chemoresistance in estrogen receptor-alpha-positive and -negative breast cancer cells [J]. Environ Health Perspect, 2009,117(2):175-180
- [11] Rosanò L, Castro VD, Spinella F, et al. Combined targeting of endothelin A receptor and epidermal growth factor receptor in ovarian cancer shows enhanced antitumor activity [J]. Cancer Res,2007,13: 6351-6359
- [12] Growcott JW. Preclinical anticancer activity of the specific endothelin A receptor antagonist ZD4054 [J]. Anticancer Drugs,2009,20:83-88
- [13] Fischgräbe J, Götte M, Michels K, et al. Targeting endothelin A receptor enhances anti-proliferative and anti-invasive effects of the HER2 antibody trastuzumab in HER2-overexpressing breast cancer cells[J]. Int J Cancer,2010,127:696-706
- [14] Ayers KL, Théron PP. Evaluating Smoothened as a G-protein-coupled receptor for Hedgehog signalling[J]. Trends Cell Biol,2010,20:287-298
- [15] Cheng WT, Xu K, Tian DY, et al. Role of Hedgehog signaling pathway in proliferation and invasiveness of hepatocellular carcinoma cells[J]. Int J Oncol,2009,34:829-836

(下转第 4591 页)

Technology,2010,03:41-42

- [14] 朱西产. 应用计算机模拟技术研究汽车碰撞安全性 [J]. 世界汽车, 1997,03:15-16,35
- Zhu Xi-chan. Application of computer simulation technology of automobile crash safety [J]. Cars in the World,1997,03:15-16,35
- [15] Steffan H, Moser A.The Collision and Trajectory models of PC-CRASH[J].SAE,960886
- [16] TNO. Madymo model manual Version 6.2 [M]. Holland: TNO,2004: 23- 42
- [17] 袁泉, 李一兵. 参数不确定度对汽车侧面碰撞事故再现结果的影响[J].农业机械学报,2005,36(5):16-19
- Yuan Quan, Li Yi-bing. Influence of parametrical uncertainties on traffic accident reappearance of vehicle side impact [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Machinery,2005,36(5):16-19
- [18] 陈忆九,邹冬华,刘宁国. 再现技术在道路交通事故鉴定中的应用[J].中国司法鉴定,2007,(3):23-27
- Chen Yi-jiu, Zou Dong-hua, Liu Ning-guo. Application of Reconstruction Technology in Forensic Identification of Traffic Accidents [J]. Chinese Journal of Forensic Sciences,2007,(3):23-27
- [19] 邹冬华,刘宁国,申杰,等. 汽车碰撞中乘员损伤成因分析与计算机仿真研究[J].法医学杂志,2006,22(4): 261-263,267
- Zou Dong-hua, Liu Ning-guo, Shen Jie, et al. Computer simulation by passenger wound analysis of vehicle collision [J]. Journal of Forensic Medicine,2006,22(4):261-263,267
- [20] 郭磊,金先龙,张晓云,等.基于计算机仿真的摩托车乘员驾乘关系认定研究[J].振动与冲击, 2008,27(7): 106-108,153
- Guo Lei, Jin Xian-long, Zhang Xiao-yun, et al. Based on computer simulation of motorcycle occupants riding finds study [J]. Vibration and Shock, 2008,27(7):106-108,153
- [21] 南日光,王宏雁,王勇.汽车与摩托车碰撞事故再现及摩托车驾驶员致伤特点分析[J].农业装备与车辆工程,2008,09:9-11
- Nan Ri-guang, Wang Hong-yan, Wang Yong. Reconstruction of Vehicle-Motorbike Accident and Analysis on Injury Characteristics of Motorbike Driver [J].Agricultural Equipment and Vehicle Engineering, 2008,09:9-11
- [22] 来剑戈,梅冰松,张弢,等.交通事故机动车驾驶人鉴定特点研究[J].证据科学,2010,18(01):110-119
- Lai Jian-ge, Mei Bing-song, Zhang Tao, et al. The Study of Identification Characteristic of Motor-vehicle Driver in Traffic Accident [J]. Scientific Evidence,2010,18 (01):110-119
- [23] 常锐.论道路交通事故痕迹的勘验[J].广东公安科技,2010,01:45-47.
- Chang Rui. Discussion on signs investigation in road traffic accidents [J]. Guangdong Public Science and Technology,2010, 01:45-47
- [24] 夏小玲,刘伟平.对交通事故中人体衣着痕迹的研究与应用[J].中国司法鉴定,2008,(5):57-59
- Xia Xiao-ling, Liu Wei-ping. Study on the Dressing Evidence in Traffic Accidents [J]. Chinese Journal of Forensic Sciences,2008,(5):57-59
- [25] 于建云,洪仕君,陈宝寿,等. 交通事故车内死亡人员乘坐位置的法医学鉴定 2 例[J].法医学杂志,2004,20(1):50-51
- Yu Jian-yun, Hong Shi-jun, Chen Bao-shou, et al. Forensic identification of 2 case of deaths take the position of car in traffic accidents [J]. Journal of forensic medicine,2004,20 (1):50-51
- [26] 陈建国,李丽莉. 道路交通事故鉴定中对驾驶人的鉴定[J].中国司法鉴定,2006,(5):60-63
- Chen Jian-guo, Li Li-li. Identification of drivers in road traffic accidents identification [J]. Chinese Journal of Forensic Sciences,2006,(5):60-63

(上接第 4548 页)

- [16] Stanton B Z, Peng L F. Small-molecule modulators of the sonic hedgehog signaling pathway[J]. Mol Biosyst,2010,6(1):44-54
- [17] Yauch RL, Dijkgraaf DJP, Alicke B, et al. Smoothed mutation confers resistance to a Hedgehog pathway inhibitor in medulloblastoma[J]. Science,2009,326:572-574
- [18] Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling in development and disease[J]. Cell, 2006, 127(3):469-480
- [19] Mechlin C W, Tanner M J, Chen M, et al. Gli2 expression and human bladder transitional carcinoma cell invasiveness[J]. J Urol,2010,184(1):344-351
- [20] Liu CC, Prior J, Piwnica-Worms, et al. LRP6 overexpression defines a class of breast cancer subtype and is a target for therapy [J]. Proc Natl Acad Sciences,2010,107:5136-5141
- [21] Hyuk Choi, Jungsug Gwak, Munju Cho, et al. Murrayafoline A attenuates the Wnt/ β -catenin pathway by promoting the degradation of intracellular β -catenin proteins[J]. Biochem Biophys Res Commun,2010 ,391:915-920
- [22] Pei-Shan Wang, Fu-Sheng Chou, Mark Bloomston, et al. Thiazolidinediones downregulate Wnt/ β -catenin signaling via multiple mechanisms in breast cancer cells[J]. J Surg Res,2009,153:210-216
- [23] Joomin Lee, Jihyeung Ju, Seyeon Park, et al. Inhibition of IGF-1 Signaling by Genistein: Modulation of E-Cadherin Expression and Downregulation of β -Catenin Signaling in Hormone Refractory PC-3 Prostate Cancer Cells[J]. Nutr Cancer,2012,64(1):153-162
- [24] Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action [J]. Nature Rev Mol Cell Biol, 2006,7:85-96
- [25] Rattan R, Giri S, Hartmann L, et al. Metformin attenuates ovarian cancer cell growth in an AMP-kinase dispensable manner[J]. J Cell Med,2011,15(1):166-178
- [26] Kisfalvi K, Eibl G, Sinnott-Smith J, et al. Metformin disrupts crosstalk between G protein-coupled receptor and insulin receptor signaling systems and inhibits pancreatic cancer growth [J]. Cancer Res, 2009, 69:6539-6545
- [27] Vazquez-Martin A, Oliveras-Ferraro C, Cufi S, et al. Metformin regulates breast cancer stem cell ontogeny by transcriptional regulation of the epithelial-mesenchymal transition (EMT) status[J]. Cell Cycle, 2010,9:3807-3814