

人肝内胆管癌细胞 PRL-3 的表达与侵袭转移研究 *

徐亦君¹ 张振玉¹ 徐 嫻¹ 曹伟军¹ 竺明晨^{2△}

(1 南京医科大学附属南京医院消化科 江苏 南京 210006 2 江苏省肿瘤医院检验科 江苏 南京 210009)

摘要 目的 探讨 PRL-3 在人肝内胆管癌侵袭转移中的作用。方法 利用小 RNA 技术干扰肝内胆管癌细胞株 PRL-3 表达,并采用细胞划痕实验和 Transwell 体外侵袭实验评价 PRL-3 对肝内胆管癌细胞侵袭转移能力的影响。结果 RT-PCR 和 Western blot 结果均显示转染 PRL-3 特异性 siRNA-2 组 PRL-3 表达明显降低($P < 0.05$)。PRL-3 siRNA-2 组在划痕培养 24h 后划痕区域宽度占初始划痕区域宽度的百分比为 $(62.12 \pm 6.28)\%$, 阴性对照组为 $(23.88 \pm 2.55)\%$, 空白对照 HCCC-9810 组为 $(21.20 \pm 6.07)\%$ 。PRL-3 siRNA-2 组细胞的划痕两端距离相比明显较宽,分别与阴性对照组细胞和空白对照 HCCC-9810 组细胞相比均有统计学意义($P < 0.05$) 后两者无显著性差异($P > 0.05$)。Transwell 体外侵袭实验结果显示, PRL-3 siRNA-2 组细胞侵袭能力明显减弱,穿膜细胞数为 (19.40 ± 2.30) 个/HP,明显少于阴性对照组 (64.00 ± 2.73) 个/HP 和正常 HCCC-9810 组 (67.20 ± 3.11) 个/HP,差异有显著性($P < 0.05$);正常 HCCC-9810 组和阴性对照组无明显差异($P > 0.05$)。结论 PRL-3 特异性 siRNA 能够抑制肝内胆管癌细胞 HCCC-9810 中内源性 PRL-3 的表达,并可以明显抑制肝内胆管癌细胞的迁移侵袭能力。

关键词 肝再生磷酸酶-3 RNA 干扰 肝内胆管癌 转移

中图分类号 R735.8 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)24-4642-05

Expression of Phosphatase of Regenerating Liver-3 in Intrahepatic Cholangiocarcinoma and its Role of Invasiveness and Metastasis*

XU Yi-jun¹, ZHANG Zhen-yu¹, XU Xian¹, CAO Wei-jun¹, ZHU Ming-chen^{2△}

(1 Department of gastroenterology, Nanjing Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing, 210006, China;

2 Clinical laboratory, Jiangsu cancer hospital, Nanjing, Jiangsu, 210009, China)

ABSTRACT Objective: To evaluate the role of phosphatase of regenerating liver-3 in intrahepatic cholangiocarcinoma invasiveness and metastasis. **Methods:** Human intrahepatic cholangiocarcinoma cell line, HCCC-9810 was transfected with PRL-3 siRNA. Scratch wound healing assay and transwell chambers were used to evaluate the motility and migrating velocity of cells. **Results:** The results of PCR and western blot showed that expression of PRL-3 significantly decreased ($P < 0.05$) after PRL-3 siRNA-2 transfection. Scratch wound healing results showed that the ratio of wound distance 24h after scratching and original wound distance in PRL-3 siRNA-2 cells, negative siRNA cells and parental HCCC-9810 cells, were respectively $(62.12 \pm 6.28)\%$, $(23.88 \pm 2.55)\%$ and $(21.20 \pm 6.07)\%$. The migrating distances of PRL-3 siRNA-2 transfecting cells was significantly shorter than those of negative siRNA cells and parental HCCC-9810 cells ($P < 0.05$). In invasion assay, the number of cells that had migrated into the lower chamber were (19.40 ± 2.30) /HP in PRL-3 siRNA-2 group, (64.00 ± 2.73) /HP in negative control group and (67.20 ± 3.11) /HP in parental HCCC-9810 group. The difference was significant between the group transfected with PRL-3 siRNA-2 and the other two groups ($P < 0.05$). **Conclusions:** PRL-3 specific siRNA can inhibit the expression of PRL-3 in HCCC-9810 cells and weaken the invasion and migration potency of HCCC-9810 cells.

Key words: PRL-3; siRNA; Intrahepatic cholangiocarcinoma; Metastasis

Chinese Library Classification (CLC): R735.8 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)24-4642-05

前言

肝内胆管细胞癌 (intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC) 是肝脏常见恶性肿瘤之一,具有恶性程度极高、易转移和预后差等特点。研究肝内胆管癌转移过程中的基因改变以及在此过程中发挥作用的因子将有助于判定肝内胆管癌的生物行为 and 评估患者预后。PRL-3 是一类小分子酪氨酸磷酸酶, Saha 等首次发现 PRL-3 在结肠癌伴肝转移组织中高表达^[1], 相关研究发

现 PRL-3 基因的上调与肿瘤转移密切相关^[2-7]。但是作为一种磷酸酶, PRL-3 在促进肝内胆管细胞癌转移的分子生物学机制还不十分清楚, 本文拟对此进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝内胆管癌细胞株 HCCC-9810 购自中国科学院上海细胞生物研究所。小鼠成纤维细胞系 NIH3T3 由山东省立医院中

* 基金项目 江苏省肿瘤医院青年创新研究项目(ZQ200904)

作者简介 徐亦君(1981-) 女, 博士, 住院医师, 主要研究方向 消化道肿瘤基础和临床研究

△通讯作者 竺明晨, E-mail: zhumingchen@yahoo.com.cn

(收稿日期 2012-03-11 接受日期 2012-04-05)

心实验室提供。蛋白提取试剂盒购自上海申能博彩生物科技有限公司,蛋白定量分析试剂盒 K3001-BCA 购自上海申能博彩生物科技有限公司,牛血清白蛋白(BSA)购自上海申能博彩生物科技有限公司,Western blot Lumious 发光试剂 SC-2048 购自美国 Santa Cruz 公司,小鼠抗人 β -actin 单克隆抗体、单克隆 PRL-3 抗体购自美国 R&D 公司,Lipofectamine2000 购自美国

invitrogen 公司,Matrigel™ 胶购自美国 BD Biosciences 公司。
1.2 方法
1.2.1 siRNA 的设计及合成 从 Pubmed 获得人类 PRL-3 mRNA 序列,选择 PRL-3 mRNA NM-032611 作为靶目标进行设计。靶序列如下:

表 1 PRL-3 干扰片段和阴性对照序列
Table 1 Sequences of PRL-3 siRNA and negative control

	Sequences
PRL-3 Target 1:	5'- AATTATCCAAACAGTGGGCAG -3'
Sense siRNA strand:	5'- UUAUCCAAACAGUGGGCAGtt-3'
Antisense siRNA strand:	3'- ttAAUAGGUUUGUCACCCGUC -5'
PRL-3 Target 2:	5'- AAGTGACCTATGACAAAACGC -3'
Sense siRNA strand:	5'- GUGACCUAUGACAAAACGCtt -3'
Antisense siRNA strand:	3'- ttCACUGGAUACUGUUUUGCG -5'
PRL-3 Target 3:	5'- AAGGCAATAAAACAGGAGCCG -3'
Sense siRNA strand:	5'- GGCAAUAAAACAGGAGCCGtt -3'
Antisense siRNA strand:	3'- ttCCGUUAUUUUGUCCUCGGC -5'
Negative control :	
Sense siRNA strand:	5'- UUCUCCGAACGUGUCACGUtt -3'
Antisense siRNA strand:	3'- ttAAGAGGCUUGCACAGUGCA -5'

1.2.2 小干扰片段的转染 PRL-3 siRNA 组:该组利用 lipofectamine2000 将设计的三条 siRNA-PRL-3 片段分别转染入肝内胆管癌细胞株 HCCC-9810 细胞,抑制 PRL-3 基因表达。HCCC-9810 细胞按 4.0×10^5 细胞 / 孔传至 6 孔板,待细胞达到 80~90%丰度,进行转染,基本操作按 invitrogen 公司 Lipofectamine™ 2000 说明书进行。

1.2.3 RT-PCR 检测干扰后 PRL-3 基因表达水平 细胞中总 RNA 的提取,RNA 浓度及纯度测定,再反转录成 cDNA (RT)。反转录体系为:模板 RNA/引物变性溶液 6 μ L, $5 \times$ M-MLV buffer 2 μ L, dNTP Mixture (各 10 mM)0.5 μ L, Rnase inhibitor (40 U/ μ L)0.25 μ L, RTase M-MLV (200 U/ μ L) 0.25 μ L~1 μ L, 加 RNase free d H₂O 至 10 μ L, 以上产物 42 $^{\circ}$ C $\times$ 60 min 孵育, 70 $^{\circ}$ C 15 min 后中止反应冰上冷却;然后将 cDNA 产物放置于 -20 $^{\circ}$ C 保存,或者直接用于下部 PCR 扩增。

PCR 扩增引物序列 PRL-3 引物 上游序列: 5-GGGACTTCTCAGGTCGTGTC-3; 下游序列 5-AGCCCCGTACTTCTTCAGGT-3; GAPDH 为内参上游序列 5-TGGTG-GACCTCATGGCCTAC-3; 下游序列 5-CAGCAACTGAGGG-CCTCTCT-3。反应体系: TaKaRa Taq HS (5 U/ μ L)0.25 μ L, 10 $\times$ PCR Buffer(Mg²⁺ Plus)5 μ L, d NTP Mixture(各 2.5 mM)4 μ L, 引物各 0.5 μ L, Reverse Primer(20 μ M)0.5 μ L, cDNA 2 μ L, 加 dH₂O 至 50 μ L。PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 5 min, 94 $^{\circ}$ C 30 s, 59 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 循环 30 次, 72 $^{\circ}$ C 10min。

1.2.4 Western blot 检测干扰后 PRL-3 蛋白表达情况 收集细胞,加入 200 μ L RIPA 细胞裂解液重悬细胞,用细胞刮匙刮下

细胞,收集于 EP 管中;用超声细胞破碎仪粉碎细胞。根据 BCA-100 蛋白质定量测定试剂盒进行蛋白含量的测定,然后进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳

1.2.5 划痕实验(Scratch wound-healing assays) 用 200 μ L 灭菌移液器枪头沿 HCCC-9810 细胞培养板底部经过每个孔的中心自上向下呈 " — " 字型划痕,无血清培养液轻洗两次,洗去细胞碎片,在 0 h 和 24 h 分别测量划痕宽度值。

1.2.6 Transwell 体外侵袭实验 HCCC-9810 细胞转染 24 h 配成细胞悬液,使 1 mL 悬液中含有 1×10^6 个细胞。在 Transwell 小室内加入 200 μ L 肿瘤细胞悬液,将小室放入 24 孔培养板中,在小室外加入 600 μ L (1 :1)混合的条件培养液和 / 或完全培养液,每组重复 4 个样本。37 $^{\circ}$ C、5 % CO₂ 培养箱中培养 24 h。95%乙醇固定,结晶紫染色并镜检。

1.3 统计学处理

采用 SPSS15.0 统计学软件对结果进行分析,数据经正态分布、方差齐性检验,各组计量资料之间进行方差分析,比较各组间的差异有无显著性。P<0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 人肝内胆管癌 HCCC-9810 细胞株 PRL-3 的表达

应用 RT-PCR 和 Western blot 分别检测肝内胆管癌细胞株 HCCC-9810 PRL-3 基因表达情况。RT-PCR 结果显示在约 200bp 处有明显的单一扩增条带,与设计引物的扩增条带位置相符(图 1.A)。Western blot 结果也表明在大约 22KD 处有蛋白条带(图 1.B)。实验证实 HCCC-9810 细胞中 PRL-3 处于高水平表达。

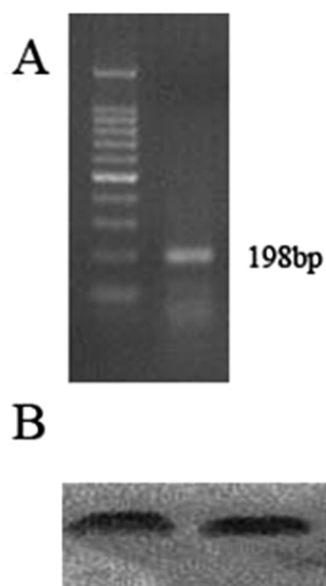


图1 人肝内胆管癌 HCCC-9810 细胞株 PRL-3 的表达。A. RT-PCR 结果显示 198bp 处可见明显条带 B. Western blot 结果显示 22KD 处见明显条带

Fig.1 The expression of PRL-3 in Human intrahepatic cholangiocarcinoma cell line HCCC-9810. A The RT-PCR showed that a band was observed in 198 bp. B Western blot showed that a band was observed in 22 KD

2.2 RT-PCR 检测 siRNA 干扰后各组细胞 PRL-3mRNA 表达水平

应用 RT-PCR 方法检测 PRL-3 siRNA-1、2、3 组及阴性对照组、脂质体对照组、及空白对照 HCCC-9810 细胞中 PRL-3 表达, 以 GAPDH 为内参, PRL-3 表达相对量 = PRL-3 电泳条带灰度积分 / GAPDH 电泳条带灰度积分。PRL-3 mRNA 相对表达水平在空白对照 HCCC-9810 组、阴性对照组、脂质体对照组及 PRL-3 siRNA-1、2、3 组分别为 0.596 ± 0.106 、 0.581 ± 0.045 、 0.651 ± 0.055 、 0.183 ± 0.085 、 0.197 ± 0.058 和 0.396 ± 0.086 。结果显示 siRNA-1 和 2 组 PRL-3 干扰效果显著, PRL-3 mRNA 相对表达水平与阴性对照组、脂质体对照、及空白对照 HCCC-9810 细胞组相比显著降低 ($P < 0.01$), 而 PRL-3 siRNA-3 组干扰效果不如 1 和 2 组。阴性对照及脂质体对照组与正常对照组 PRL-3 mRNA 相对表达水平无明显差异 ($P > 0.05$)。参见图 2。

2.3 Western blot 检测干扰后各组细胞 PRL-3 蛋白表达水平

采用 Western blot 检测 PRL-3 siRNA-1、2、3 组及阴性对照组、脂质体对照组、及空白对照 HCCC-9810 细胞中 PRL-3 蛋白表达水平。PRL-3 蛋白相对表达水平在空白对照 HCCC-9810 组、阴性对照组、脂质体对照组及 PRL-3 siRNA1、2、3 组分别为 0.653 ± 0.077 、 0.589 ± 0.049 、 0.611 ± 0.066 、 0.071 ± 0.018 、 0.059 ± 0.024 和 0.280 ± 0.101 。结果显示 PRL-3 siRNA-1 和 2 组 PRL-3 蛋白相对表达水平与阴性对照组、脂质体对照及空白对照 HCCC-9810 细胞组相比, 蛋白表达显著降低 ($P < 0.01$), 而 PRL-3 siRNA 3 组干扰效果相对较弱 (图 3)。阴性对照及脂质体对照组与空白对照组相比, PRL-3 蛋白相对表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。通过 RT-PCR 和 western blot 结果综合分析, 发现 PRL-3siRNA-2 干扰效果相对较好, 本实验选用

PRL-3siRNA-2 干扰片段进行 PRL-3 相关功能检测。

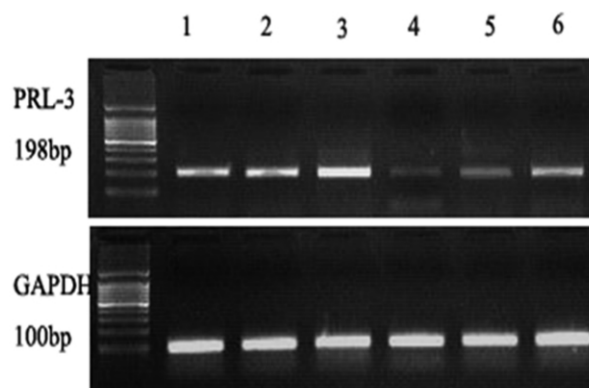
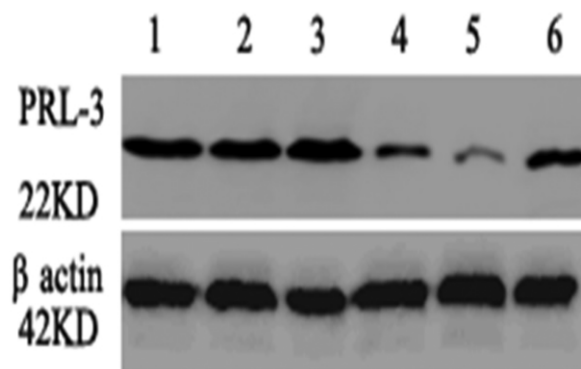


图2 siRNA 转染 HCCC-9810 细胞后 PRL-3mRNA 水平变化。1.空白对照组 2. 阴性对照组 3. 脂质体对照组 4. PRL-3 siRNA-1 组 5. PRL-3 siRNA-2 组 6. PRL-3 siRNA-3 组。siRNA 干扰后 PRL-3 siRNA 组 PRL-3mRNA 相对表达水平与空白对照组 HCCC-9810 细胞相比, 有显著差异 ($P < 0.05$), 其中 PRL-3 siRNA1 和 2 组又优于 PRL-3 siRNA3 组

Fig.2 Decreased mRNA expression level of PRL-3 with siRNA treatment in HCCC-9810 cell. 1. Blank control; 2. Negative control; 3. liposome control; 4. PRL-3 siRNA-1; 5. PRL-3 siRNA-2 6. PRL-3 siRNA-3. The expression level of PRL-3 mRNA in the three siRNA groups were significantly decreased compared with that in blank group. Additionally, the interference effects of PRL-3 siRNA1 and PRL-3 siRNA2 were better than PRL-3 siRNA3



A

图3 siRNA 转染 HCCC-9810 细胞后 PRL-3 蛋白水平变化。1.空白对照组 2. 阴性对照组 3. 脂质体对照组 4. PRL-3 siRNA-1 组 5. PRL-3 siRNA-2 组 6. PRL-3 siRNA-3 组。siRNA 干扰后 PRL-3 siRNA 组 PRL-3mRNA 相对表达水平与空白对照组 HCCC-9810 细胞相比, 有显著差异 ($P < 0.05$), 其中 PRL-3 siRNA1 和 2 组又优于 PRL-3 siRNA3 组

Fig.3 Decreased protein expression level of PRL-3 with siRNA treatment in HCCC-9810 cell. 1. Blank control; 2. Negative control; 3. liposome control; 4. PRL-3 siRNA-1; 5. PRL-3 siRNA-2 6. PRL-3 siRNA-3. The expression level of PRL-3 protein in the three siRNA groups were significantly decreased compared with that in blank group. Additionally, the interference effects of PRL-3 siRNA1 and PRL-3 siRNA2 were better than PRL-3 siRNA3

2.4 PRL-3 基因 RNA 干扰对 HCCC-9810 细胞迁移能力的影响

应用划痕实验评价 PRL-3 siRNA-2 组、阴性对照组及空白

对照 HCCC-9810 组细胞的迁移运动能力,结果以各组细胞划痕后培养 24 h 的划痕区域宽度占初始划痕区域宽度的百分比来表示(图 4)。划痕实验结果 PRL-3 siRNA-2 组在划痕 24h 后划痕区域相对宽度为(62.12 ± 6.28)%, 阴性对照组为(23.88 ± 2.55)%,空白对照 HCCC-9810 组为(21.20 ± 6.07)%。PRL-3

siRNA-2 组细胞的划痕两端距离分别与阴性对照组细胞和空白对照 HCCC-9810 组细胞相比明显较宽 ($P < 0.05$),后两者无显著性差异($P > 0.05$)。结果显示抑制 PRL-3 表达可影响肝内胆管癌 HCCC-9810 细胞的迁移运动能力。

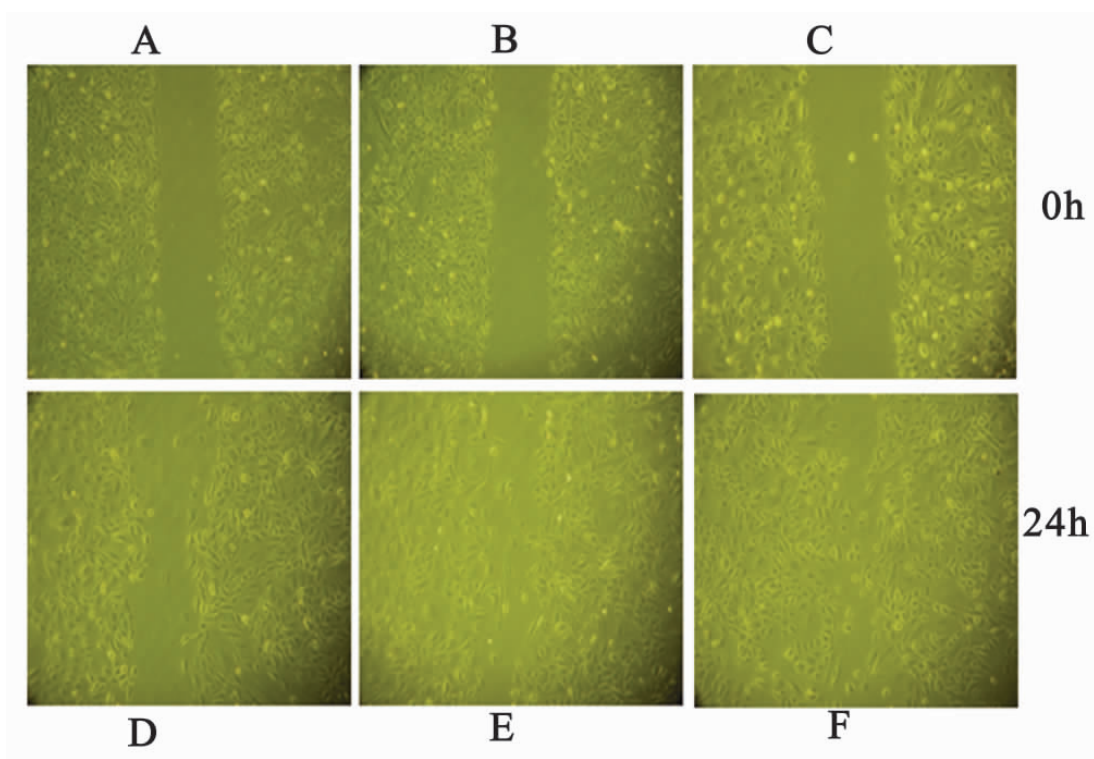


图 4 PRL-3siRNA 干扰对肝内胆管癌细胞 HCCC-9810 运动迁移能力的影响。A 和 D: PRL-3siRNA-2 组 ;B 和 E :阴性对照组 ;C 和 F :空白对照组。PRL-3 siRNA-2 组划痕相对宽度较空白对照组明显宽($P < 0.05$)

Fig.4 The effect of PRL-3 siRNA on the motility of HCCC-9810. A and D: PRL-3siRNA-2; B and E: negative control; C and F blank control. The migrating distances of PRL-3-2 siRNA transfecting cells was significantly wider than those of negative siRNA cells ($P < 0.05$)

2.5 PRL-3 基因 RNA 干扰对 HCCC-9810 细胞侵袭能力的影响

Transwell 体外侵袭实验用来检测 PRL-3siRNA-2 组、阴性对照组及空白对照 HCCC-9810 组细胞体外侵袭能力的变化。体外侵袭实验结果显示穿膜细胞数为(19.40 ± 2.30)个/HP,明

显少于阴性对照组 (64.00 ± 2.73) 个/HP 和空白对照 HCCC-9810 组(67.20 ± 3.11)个/HP,PRL-3 siRNA-2 组细胞侵袭能力减弱 ($P < 0.05$),阴性对照组与空白对照 HCCC-9810 组相比无显著差异($P > 0.05$)(图 5)。

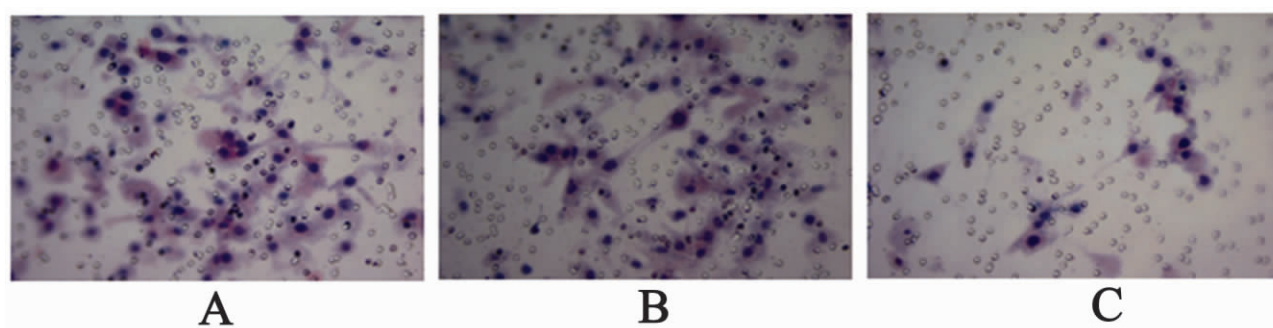


图 5 PRL-3 siRNA 干扰对肝内胆管癌细胞 HCCC-9810 侵袭能力的影响。A 空白对照组 ;B 阴性对照组 ;C PRL-3 siRNA-2 组。PRL-3 siRNA-2 组穿膜细胞数较空白对照组明显减少($P < 0.05$),阴性对照组与空白对照组相比无明显差异($P > 0.05$)

Fig.5 The effect of PRL-3 siRNA on the invasion of HCCC-9810. A blank group; B negative control; C PRL-3 siRNA-2. In invasion assay, the number of cells that had migrated into the lower chamber in PRL-3 siRNA-2 group were significantly lower than that in blank control($P < 0.05$). There was no significant difference between blank group and negative group ($P > 0.05$)

3 讨论

PRLs 是蛋白酪氨酸酶 (PTP) 家族的重要成员, 在发现 PRL-3 有促进结肠癌肝转移的作用后, 现在越来越多的研究表明其与肿瘤的发生和转移有密切的关系, 研究证实 PRL-3 在胃癌^[9]、卵巢癌^[10]、乳腺癌^[11]等肿瘤中高表达, 并且和预后及转移有关, PRL-3 因此也成为肿瘤转移的一个独立预后指标^[12,13]和潜在治疗靶点^[14-16]。

RT-PCR 和 Western-blot 证实 PRL-3 在人胆管癌细胞 HC-CC-9810 细胞株中高表达。为了探讨 PRL-3 在人胆管癌浸润转移过程中的作用, 本研究采用了 RNA 干扰技术抑制人肝内胆管癌 HCCC-9810 细胞株中 PRL-3 表达, 观察 PRL-3 干扰后细胞迁移侵袭能力的改变。干扰后划痕实验结果显示 PRL-3 干扰组和阴性对照组、空白对照组相比, 划痕宽度明显较宽, PRL-3 基因 siRNA 干扰后肝内胆管癌细胞的运动迁移能力降低。Transwell 小室体外侵袭实验结果同样发现 PRL-3 siRNA 组穿过小室的细胞数相比较阴性对照组和空白对照组显著减少, 证明干扰后肝内胆管癌细胞的侵袭能力降低, 实验结果与 Qian^[17]报道一致。我们的研究结果发现特异性干扰 PRL-3 导致肝内胆管癌细胞迁移、侵袭能力下降, 这同时也说明 PRL-3 可能促进肝内胆管癌细胞的迁移侵袭。主要机制可能与 PRL-3 上调 MAPK 信号传导通路中效应分子 ERK1 / 2 的磷酸化^[18], 改变 RhoGTPase 家族活性^[19]和 PI3K 通路促进上皮细胞向间质转变^[20]等有关。

总之, 本研究采用 RNA 干扰技术抑制肝内胆管癌细胞 PRL-3 表达证实 PRL-3 与人胆管癌浸润转移密切相关。PRL-3 蛋白作为一种磷酸酶参与肿瘤转移的详尽机制有待更多实验深入探索。相信随着研究的不断深入 PRL-3 有望成为检测和治疗肝内胆管癌转移的一个分子靶点。

参考文献 (References)

- [1] Saha S, Bardelli A, Buckhaults P, et al. A phosphatase associated with metastasis of colorectal cancer [J]. Science, 2001, 294 (5545):1343-1346
- [2] Lai W, Chen S, Wu H, et al. PRL-3 promotes the proliferation of LoVo cells via the upregulation of KCNN4 channels [J]. Oncol Rep, 2011, 26(4):909-917
- [3] Pryczynicz A, Guzińska-Ustymowicz K, Chang XJ, et al. PTP4A3 (PRL-3) expression correlate with lymphatic metastases in gastric cancer. Folia Histochem Cytobiol [J]. 2010, 48(4):632-636
- [4] 褚忠华, 刘璐, 来伟, 等. 受翻译调节的肿瘤蛋白在 PRL-3 促进结肠癌转移中的作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27 (10): 1907-1912
- Chu Zhong-hua, Liu Lu, Lai Wei, et al. Role of translationally controlled tumor protein in PRL-3-promoted metastasis of colon cancer cells [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2011, 27(10):1907-1912 (In Chinese)
- [5] Pryczynicz A, Guzińska-Ustymowicz K, Chang XJ, et al. PTP4A3

- (PRL-3) expression correlate with lymphatic metastases in gastric cancer [J]. Folia Histochem Cytobiol, 2010, 48(4):632-636
- [6] Al-Aidaroos AQ, Zeng Q. PRL-3 phosphatase and cancer metastasis [J]. J Cell Biochem. 2010, 111(5):1087-1098
- [7] Hao RT, Zhang XH, Pan YF, et al. Prognostic and metastatic value of phosphatase of regenerating liver-3 in invasive breast cancer [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136(9):1349-1357
- [8] Matter WF, Estridge T, Zhang C, et al. Role of PRL-3, a human muscle-specific tyrosine phosphatase, in angiotensin-II signaling [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 283 (5):1061-1068
- [9] Miskad UA, Semba S, Kato H, et al. High PRL-3 expression in human gastric cancer is a marker of metastasis and grades of malignancies: an in situ hybridization study [J]. Virchows Arch, 2007, 450 (3): 303-310
- [10] Ren T, Jiang B, Xing X, et al. Prognostic Significance of Phosphatase of Regenerating Liver-3 Expression in Ovarian Cancer [J]. Pathol Oncol Res, 2009, 15(4):555-560
- [11] Hao RT, Zhang XH, Pan YF, et al. Prognostic and metastatic value of phosphatase of regenerating liver-3 in invasive breast cancer [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136(9):1349-1357
- [12] Ooki A, Yamashita K, Kikuchi S, et al. Phosphatase of regenerating liver-3 as a prognostic biomarker in histologically node-negative gastric cancer [J]. Oncol Rep, 2009, 21(6):1467-1475
- [13] Dai N, Lu AP, Shou CC, et al. Expression of phosphatase regenerating liver 3 is an independent prognostic indicator for gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2009, 28,15(12):1499-1505
- [14] Ooki A, Yamashita K, Kikuchi S, et al. Therapeutic potential of PRL-3 targeting and clinical significance of PRL-3 genomic amplification in gastric cancer [J]. BMC Cancer, 2011, 6,11:122
- [15] Ooki A, Yamashita K, Kikuchi S, et al. Phosphatase of regenerating liver-3 as a convergent therapeutic target for lymph node metastasis in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Int J Cancer, 2010, 127(3): 543-554
- [16] Yamashita K, Sakuramoto S, Watanabe M. Genomic and epigenetic profiles of gastric cancer: potential diagnostic and therapeutic applications [J]. Surg Today, 2011, 41(1):24-38
- [17] Qian F, Li YP, Sheng X, et al. PRL-3 siRNA inhibits the metastasis of B16-BL6 mouse melanoma cells in vitro and in vivo [J]. Mol Med, 2007 (3-4), 13:151-159
- [18] Peng L, Jin G, Wang L, Guo J, et al. Identification of integrin alpha1 as an interacting protein of protein tyrosine phosphatase PRL-3 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 342 (1):179-183
- [19] Fiordalisi JJ, Keller PJ, Cox AD. PRL tyrosine phosphatases regulate rho family GTPases to promote invasion and motility [J]. Cancer Res, 2006, 66 (6):3153-3161
- [20] Wang H, Quah SY, Dong JM, Manser E, et al. PRL-3 down-regulates PTEN expression and signals through PI3K to promote epithelial-mesenchymal transition [J]. Cancer Res, 2007, 67 (7):2922-2926