

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.22.006

棕榈酸促进肝癌细胞侵袭转移的分子机制*

刘璐¹ 张先娇² 权晓娟³ 罗苗¹ 张磊¹ 徐孝娜¹ 王枫^{1△} 刘寒强^{1△}

(1 第四军医大学军事预防医学系营养与食品卫生学教研室 陕西 西安 710032;

2 陕西省人民医院医学教育科研处 陕西 西安 710068; 3 西安交通大学第二附属医院老年病科 陕西 西安 710004)

摘要 目的:探讨棕榈酸(Palmitic acid, PA)对人肝癌细胞系 SMMC-7721 侵袭转移能力的影响,并通过检测肝癌细胞系中 CD147-MMPs 信号通路在 PA 影响下的变化,初探 PA 影响肝癌细胞侵袭转移的分子机制。**方法:**PA(0、20、50、100 μ M)作用 SMMC-7721 细胞后(8、16、24h),MTT 法检测细胞增殖,划痕及 Transwell 实验评价细胞迁移侵袭能力,Western-blot 及 real-time PCR 检测 CD147 蛋白及其 mRNA 的水平,ELISA 检测基质金属蛋白酶(MMP-2, MMP-9)的水平。**结果:**与对照组相比,PA 作用 SMMC-7721 细胞后,细胞存活率无显著差异($P>0.05$);细胞迁移和侵袭能力显著增高($P<0.05$);CD147 蛋白及其 mRNA 的表达显著增高($P<0.05$);培养上清中 MMP-9 的浓度显著增高($P<0.05$),MMP-2 的水平则无变化。不同的梯度组之间相比较,细胞迁移和侵袭能力、CD147 的表达水平(蛋白及其 mRNA)以及培养上清中 MMP-9 的浓度均随 PA 作用时间和作用剂量的增大而产生更显著的增高。**结论:**PA 通过活化 CD147-MMPs 信号通路促进 SMMC-7721 细胞的迁移侵袭。

关键词:棕榈酸;肝癌;侵袭转移;CD147;基质金属蛋白酶

中图分类号:R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)22-4223-05

Molecular Mechanism of Palmitic Acid Induced Invasion and Metastasis of Hepatoma Carcinoma Cells*

LIU Lu¹, ZHANG Xian-jiao², QUAN Xiao-juan³, LUO Miao¹, ZHANG Lei¹, XU Xiao-na¹, WANG Feng^{1△}, LIU Han-qiang^{1△}

(1 Department of Nutrition and Food Hygiene, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Medical Education and Research, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China;

3 The second affiliated hospital of Medical College of Xi'an jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710004, China)

ABSTRACT Objective: The impact of dietary fatty acids on the development and progression of cancer is highly controversial. In this study, we investigated whether palmitic acid (PA, saturated fatty acids) enhances migration and invasion of hepatoma cells via a CD147-MMPs pathway. **Methods:** Human SMMC-7721 cells was exposed to PA. MTT assay was used for cell viability and wound healing, transwell assays for cell migratory and invasive abilities, qRT-PCR for CD147 mRNA expression, Western blot for CD147 protein expression, and ELISA for MMPs levels. **Results:** Compared to control, PA has no significant effect on cell growth; promotes the migration and invasion of cells; induces a up-regulation of CD147 expression and stimulates cells to secrete MMP-9. Within a certain concentration range(0,20,50,100 μ M), PA can enhances the migration and invasion of cells, up-regulates CD147 expression (protein and mRNA level) and stimulates MMP-9 secretion in a dose- and time-dependent manner. **Conclusion:** Taken together, our findings demonstrate that PA has potential to promote the migration and invasion of SMMC-7721 cells through the activation of CD147-MMPs pathway in vitro.

Key words: Palmitic acid (PA); Hepatocellular carcinoma (HCC); Migration and invasion; CD147; Matrix metalloproteinases (MMPs)

Chinese Library Classification: R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)22-4223-05

前言

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是导致癌症相关死亡的第三大原因,全球每年死亡人数达 60 万人,而我国占 50%以上^[1]。肿瘤的复发和侵袭转移是导致肝癌患者死亡的主要原因^[2]。肝癌的侵袭转移是一个多因素调控的复杂动态过程。目前,肝癌转移的分子机制尚不明确。因此,探究肝癌侵袭转移

的分子机制及其调控因素对理解肝癌发生发展的机制具有重要理论意义,也为将来肝癌的临床治疗提供了新的方向和策略。

越来越多的研究表明不同类型的膳食脂肪酸对多种肿瘤的转移有抑制或促进作用^[3,4]。n-3 多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)可以抑制多种肿瘤细胞的转移,而 n-6 PUFAs 及饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)则对肿瘤细胞

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81072303)

作者简介:刘璐(1988-),女,硕士,主要研究方向:脂肪酸影响肿瘤发生发展的分子机制研究,电话:18628073223, E-mail:383874769@qq.com

△通讯作者:王枫,电话:029-84774481, E-mail: wfeng@fmmu.edu.cn;

刘寒强,电话:029-84774483, E-mail: liuhanqiangvip@163.com

(收稿日期:2014-03-20 接受日期:2014-04-04)

的转移和增殖有促进作用^[58]。棕榈酸(C16:0)又称软脂酸,是体内含量最丰富的饱和脂肪酸之一,是机体能量的主要来源,也是细胞膜脂质的重要构成部分。人体内的PA可从膳食脂肪中直接获取或通过黄素合成酶合成。流行病学调查显示,PA与多种肿瘤的发生发展密切相关,但分子机制尚不十分明确^[9]。此外,研究表明PA可激活人和小鼠体内的炎症通路并诱导肿瘤相关因子的产生,如白细胞介素1(IL-1)、IL-6和肿瘤坏死因子 α ^[10,11]。近期研究还发现PA与乳腺癌细胞的分化相关。然而,目前尚无文献报道肝癌细胞的侵袭转移是否也受PA的影响。

细胞外基质和基底膜的降解和破坏是肿瘤转移多阶段过程中的重要步骤。而CD147为细胞外基质金属蛋白酶诱导物,高表达于人肝癌组织和转移性肝癌细胞的膜表面,同时也高表达于其他上皮来源的多种肿瘤中^[12]。CD147的过表达可促进多种肿瘤细胞本身及其周围的成纤维细胞和内皮细胞分泌MMPs(如MMP-2、MMP-9)。MMPs是最重要的肿瘤间质相互作用介导分子之一,能降解细胞外基质,促进多种肿瘤细胞侵袭^[13]。此外,肿瘤组织中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达也与CD147的表达呈正相关,CD147在肝癌组织中的高表达能够刺激其周围的血管内皮细胞的增殖、迁移及血管样形成^[14]。MMPs和VEGF是决定肿瘤新生血管能否形成的开关分子,CD147通过调控这2个分子,营建了诱导血管生成的微环境。CD147还可以与integrin家族的 $\alpha 3\beta 1$ 、 $\alpha 6\beta 1$ 亚基形成复合物,参与多种肿瘤细胞和细胞外基质的黏附以及肿瘤细胞与间质细胞之间的黏附^[15]。值得注意的是,CD147还能够促进肝癌细胞上皮间质转化,而上皮间质转化是肿瘤侵袭转移的重要机制之一^[16]。然而,CD147如何参与肝癌侵袭转移的过程,目前尚无相关文献报道。本研究对PA是否通过激活CD147-MMPs信号通路来影响肝癌细胞的侵袭转移这一问题做了初步探索。

1 材料与方法

1.1 试剂

棕榈酸(sigma,美国);人肝细胞癌细胞系 SMMC-7721(第四军医大学细胞生物学教研室提供);RPMI-1640培养基(Hyclone,美国);新生胎牛血清(杭州四季青公司);MTT(sigma,美国);Matrigel(BD,美国);Transwell 24孔板小室(Nunc,丹麦);RIPA细胞裂解液(碧云天公司);BCA蛋白定量试剂盒(北京罗基生物公司);CD147鼠抗人单克隆抗体(abcam, USA); β -actin鼠抗人单克隆抗体(abcam, USA);辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠抗体(abcam, USA);ECL plus western试剂盒(Pierce公司);TRIZOL(GIBCOBRL);Real-Time PCR相关试剂(TaKaRa,日本);引物(上海生工生物工程公司);ELISA试剂盒(武汉伊莱瑞特生物公司);其它普通化学试剂(西安化学试剂厂)。

1.2 仪器

YJ875SA超净台(吴江市净化设备总厂);二氧化碳孵箱(Formia 371, Thermo, 美国);倒置相差显微镜(CKX41, OLYMPUS, 日本);低温高速离心机(5424R, Eppendorf, 德国);酶标仪(Lab systems MK3, Thermo, 美国);蛋白电泳仪(Bio-rad Mini-p3, 美国);化学发光成像系统(ChemiDoc-It 410, UVP, 美国);梯度PCR仪(Bio-rad, 美国)。

1.3 方法

1.3.1 人肝癌细胞系 SMMC-7721 培养 RPMI-1640 培养基(10%胎牛血清)常规培养,温度 37℃、5% CO₂,饱和湿度。

1.3.2 MTT 实验 以 1.0×10^3 孔的密度接种 SMMC-7721 细胞于 96 孔板,实验组细胞用不同浓度的 PA(20, 50, 100 μ M)处理;阴性对照组细胞不加入 PA,按常规方法培养;空白对照组为不含 PA 的培养液,比色时以空白孔调零,每组设 6 个复孔。分别于 8, 16, 24 h 后加入 MTT 溶液 20 μ L/孔,继续孵育 4 h 后终止培养,吸弃培养液,每孔加入 150 μ L DMSO,震荡 10 min,在酶联免疫检测仪上以波长 490nm 测各孔吸光度(A)值。细胞存活率(Cell Viability, CV)的计算公式(公式 1):

$$CV = \frac{\text{实验组 A 值} - \text{空白对照组 A 值}}{\text{阴性对照组 A 值} - \text{空白对照组 A 值}} \times 100\% \text{ (公式 1)}$$

1.3.3 划痕实验 以 1.0×10^4 个/孔的密度接种细胞于六孔板,用无菌中枪头在培养板底部划一直线,加入无血清培养液继续培养,实验组分为 20、50、100 μ M PA 处理 8、16、24 h,阴性对照组加入等体积无血清培养液处理相同时间。用 Image J 软件测量细胞迁移距离,用细胞迁移率评价细胞的迁移能力(公式 2):

$$\text{迁移率} = \frac{\text{实验组迁移距离}}{\text{对照组迁移距离}} \times 100\% \text{ (公式 2)}$$

1.3.4 Transwell 实验 matrigel 放于 4℃ 冰箱过夜解冻,1:8 稀释 matrigel,以每孔 45 μ L 的量铺于 8 μ m 孔径的 transwell 24 孔板小室的上室面,室温风干,用含 10g/L 牛血清白蛋白的培养液水化基底膜,将 1.0×10^6 个细胞接种于小室上室面,下室加入完全培养基,待细胞贴壁后将上下室培养液换成 0、20、50、100 μ M PA,分别作用 8、16、24 h 后取出,用棉签擦掉上室面细胞及 matrigel,于 95%乙醇中固定,3%结晶紫染色,自来水冲洗小室,倒置显微镜下 200 倍观察细胞,计数移至微孔膜下层的细胞,每个样本随机取 10 个视野取均值。

1.3.5 Western-blot SMMC-7721 细胞经过 0、20、50、100 μ M PA 处理 8、16、24 h 后,收集细胞,冰上用 RIPA 裂解液(强)裂解细胞,4℃ 下以 12000 rpm 离心 5 min,取上清液,提取总蛋白。用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白浓度。蛋白上样量为 15 μ g,加入相等体积的 SDS loading buffer 变性后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳。配置 6% 积层胶,10% 分离胶,90 V 恒压电泳 75 min,90 V 恒压转膜 1 h,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,1:5000 稀释一抗,4℃ 过夜,TBST 洗 3 遍后,HRP 二抗室温孵育 1 h,TBST 洗 3 遍,化学发光成像仪获取图片。

1.3.6 Real-Time PCR

a) 引物设计

利用 Primer3.0 软件设计引物并由上海生工有限公司合成。

CD147 上游引物:5'ACTCCTCACCTGCTCCTTGA-3',下游引物:5'-GCCTCCATGTTTCAGGTTCTC-3'; β -actin 上游引物:5'-GGACTTCGAGCAAGATGG-3',下游引物:5'-AGCACTGTGTTGGCGTACAG-3'。

b) 总 RNA 提取 SMMC-7721 细胞经过 0、20、50、100 μ M PA 处理 8、16、24h 后,用 RNAiso 一步法提取总 RNA。

c) 反转录及 PCR 反应

用 SYBR Green Assay 反转录试剂盒(TaKaRa)将 CD147mRNA 反转录成 cDNA;反应体系:10 μ L;反应条件:37℃ 15 min(反转录反应),85℃ 5 s(反转录酶失活反应)PCR 反应程序:预变性 95℃ (30s),PCR 95℃ (3s),60℃ (30s),40 个

循环。每个样品均设 3 个复孔,采用比较 Ct 值法。

d) ELISA

试剂盒购于武汉伊莱瑞特生物科技有限公司,按照说明书步骤操作。

1.4 统计分析

定量数据采用 $\bar{x} \pm S$ 表示,t 检验分析组间的显著性差异,用 SPSS 18.0 软件统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PA 对 SMMC-7721 细胞增值率的影响

已有研究表明,低浓度 PA($<144 \mu\text{M}$)作用时间小于 48 h,对正常肝细胞 L02 及肝癌细胞 HepG2 的增值率均无显著性影响。我们的研究得到了相同的结果,PA(0、20、50、100 μM)作用 SMMC-7721 细胞后(8、16、24h),实验组与阴性对照组比较没有明显的促增殖作用(图 1)。

2.2 PA 显著促进 SMMC-7721 细胞的迁移

20、50、100 μM PA 对 SMMC-7721 细胞迁移能力均有明显促进作用。同一时间点(8、16、24h),不同浓度组(20、50、100 μM)分别与对照组比较,细胞迁移率差异有统计学意义($P < 0.05$),且随 PA 浓度增加,迁移率也逐渐增大;同一浓度时,16

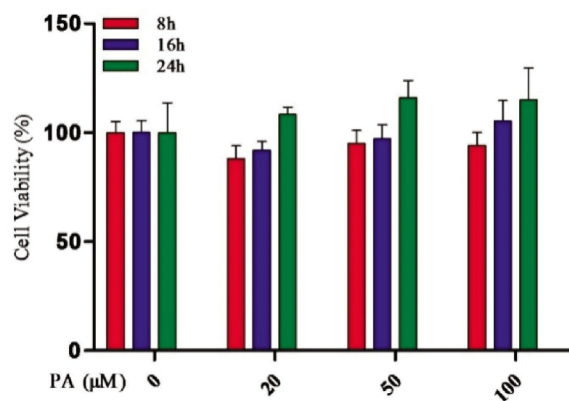


图 1 PA 对 SMMC-7721 细胞增殖的影响

Fig. 1 Effect of PA on cell viability of SMMC-7721 cells

h 及 24 h 分别与 8 h 比较,迁移率也有显著性差异($P < 0.05$),且随时间延长,迁移率也逐渐增大。实验结果表明,PA 能够显著促进 SMMC-7721 的迁移,且有明显的时间 - 剂量依赖性(图 2)。

2.3 PA 显著促进 SMMC-7721 细胞的侵袭

经过 PA 处理 8、16、24 h 后,20、50、100 μM 组的细胞侵袭能力与对照组相比显著增高(图 3)($P < 0.05$)。

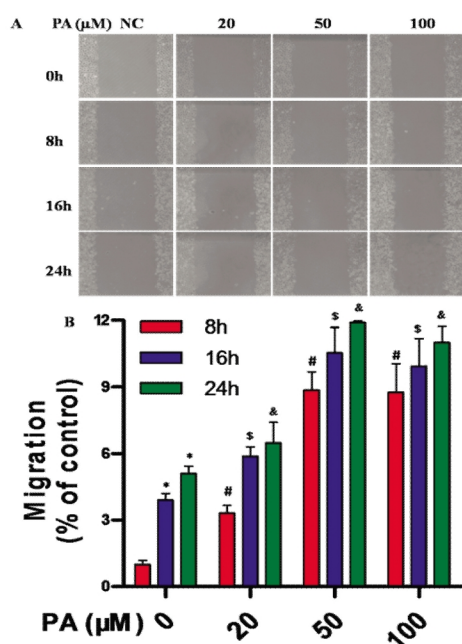


图 2 PA 对 SMMC-7721 细胞迁移的影响(100×)

Fig. 2 Effect of PA on cell migration of SMMC-7721 cells(100×)

注: A: SMMC-7721 细胞迁移距离; B: 对迁移距离进行计算后的结果。

* $P < 0.05$ 16、24 h 对照组分别与 8 h 对照组相比; # $P < 0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 8 h 后, 20、50、100 μM PA 组分别与对照组相比; \$ $P < 0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 16 h 后, 20、50、100 μM PA 组分别与对照组相比; & $P < 0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 24 h 后, 20、50、100 μM PA 组分别与对照组相比

Note: * $P < 0.05$ 16, 24 h control groups compared with 8 h control group; # $P < 0.05$ 20, 50, 100 μM groups compared with control group after treated with PA for 8 h; \$ $P < 0.05$ 20, 50, 100 μM groups compared with control group after treated with PA for 16 h; & $P < 0.05$ 20, 50, 100 μM groups compared with control group after treated with PA for 24 h

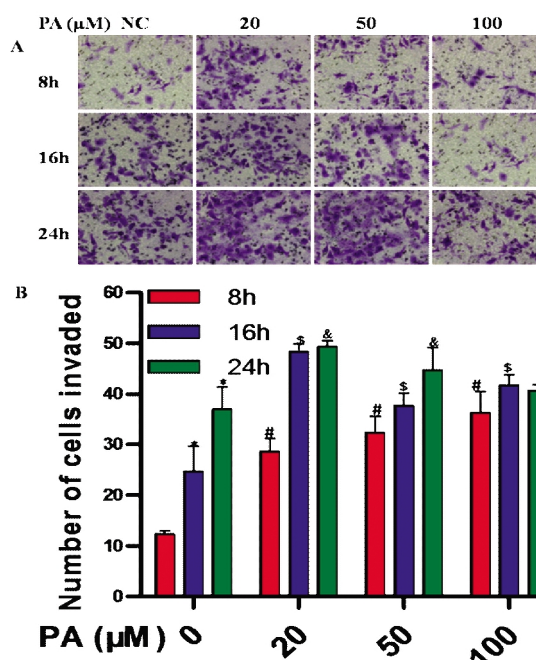


图 3 PA 对 SMMC-7721 细胞侵袭能力的影响(200×)

Fig. 3 Effect of PA on cell invasion of SMMC-7721 cells(200×)

注: A: 经 PA 作用后, 从 transwell 小室微孔膜上层移至下层的 SMMC-7721 细胞; B: A 中染色细胞的计数结果。* $P < 0.05$ 16、24 h 对照组分别与 8 h 对照组相比; # $P < 0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 8 h 后, 20、50、100 μM PA 组分别与对照组相比; \$ $P < 0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 16 h 后, 20、50、100 μM PA 组分别与对照组相比; & $P < 0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 24 h 后, 20、50、100 μM PA 组分别与对照组相比

Note: * $P < 0.05$ 16, 24 h control groups compared with 8 h control group; # $P < 0.05$ 20, 50, 100 μM groups compared with control group after treated with PA for 8 h; \$ $P < 0.05$ 20, 50, 100 μM groups compared with control group after treated with PA for 16 h; & $P < 0.05$ 20, 50, 100 μM groups compared with control group after treated with PA for 24 h

2.4 PA 上调 SMMC-7721 细胞 CD147 蛋白及其 mRNA 的表达
已有研究表明 CD147 分子与肝癌的侵袭转移密切相关。本研究证明,实验组与对照组相比,CD147 蛋白的表达量随 PA 对 SMMC-7721 细胞作用时间的延长而增高,也随 PA 作用剂量

的升高而增高,具有明显的时间 - 剂量依赖关系;并且 real-time PCR 检测发现,8h 组 50、100 μ M 和 24 h 组 50 μ M 的 CD147 转录水平与对照组相比显著升高 ($P<0.05$),16 h 和 24h 的 100 μ M 组的 CD147 转录水平均显著高于对照组(图 4)($P<0.01$)。

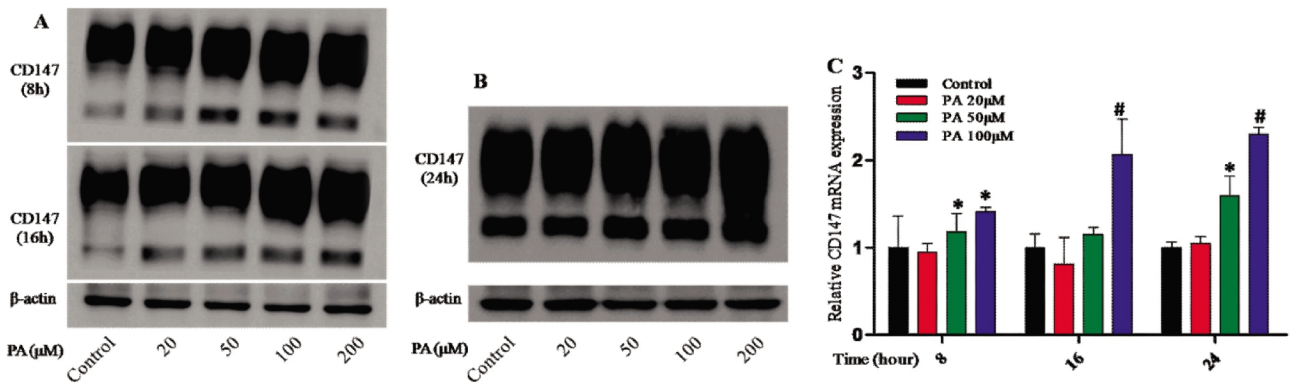


图 4 CD147 蛋白及其 mRNA 表达的变化

Fig. 4 PA upregulates CD147 protein and its mRNA expression

注:A、B:western-blot 检测 CD147 蛋白表达水平;C:real-time PCR 检测 CD147 mRNA 表达水平。* $P<0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 8 h 后,50、100 μ M 组分别与对照组相比;PA 作用 SMMC-7721 细胞 24 h 后,50 μ M 组与对照组相比;# $P<0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 16 h 后,100 μ M 组与对照组相比;PA 作用 SMMC-7721 细胞 24 h 后,100 μ M 组与对照组相比。

Note: * $P<0.05$ 50,100 μ M groups compared with control group after treated with PA for 8 h; 50 μ M groups compared with control group after treated with PA for 24 h; # $P<0.05$ 100 μ M group compared with control group respectively after treated with PA for 16,24 h.

2.5 PA 对 SMMC-7721 细胞 MMP-2、MMP-9 表达影响

研究表明,CD147 主要通过刺激肝癌细胞产生 MMPs (如 MMP-2、MMP-9) 促进肝癌的侵袭转移。由图 5 可知, SMMC-7721 细胞经 PA 作用后,培养上清中 MMP-2 的水平无明显变化($P>0.05$);而 MMP-9 的水平随 PA 作用时间延长和 PA 浓度的加大而显著升高($P<0.05$)。

3 讨论

本研究首次证明了 PA 对 SMMC-7721 细胞虽然无明显的促增殖作用,但可显著促进其侵袭和迁移能力。进一步的分子机制研究证实了 PA 可上调 CD147 分子的表达,进而促进 MMP-9 的分泌。此外,在我们设定的 PA 浓度范围内(0、20、50、100 μ M),细胞迁移和侵袭能力、CD147 蛋白及其 mRNA 的表达水平以及培养上清中 MMP-9 的浓度均随 PA 作用时间和作用剂量的增大而产生更显著的增高。这些结果提示我们 PA 能够促进肝癌细胞的侵袭转移,且具有明显的时间 - 剂量效应。

人群流行病学研究显示,前列腺癌的风险与饱和脂肪酸的摄入呈正相关^[17,18]。乳腺癌妇女伴随有肥胖或糖尿病等并发症,这与循环脂肪酸水平升高有关;该研究还发现 PA 作用于非恶性和恶性人乳腺上皮细胞后尽管不影响细胞的增殖,但它能诱导非恶性细胞的死亡^[19]。本研究也得到了相同的结果,即 PA 在低于 100 μ M 浓度条件下并不诱导 SMMC-7721 细胞的死亡,但 PA 在高浓度时(>100 μ M)是否也具有相同的作用尚不清楚。此外,PA 是否影响其他类型的肿瘤细胞的生长增殖是亟待我们解决的科学问题。PA 是含量丰富的饱和脂肪酸之一,可能是导致多种消化器官癌变或者分化、转移的主要罪魁祸首。因此,我们拟进一步研究 PA 是否影响肝癌细胞的分化。

近年来,与肿瘤侵袭转移相关的多个分子逐步被发现和证

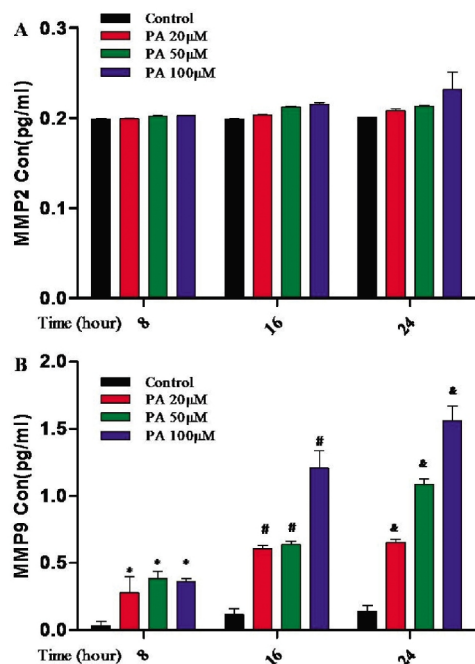


图 5 PA 作用 SMMC-7721 细胞后 MMPs 表达量的变化

Fig. 5 PA stimulates SMMC-7721 cells to secrete MMPs

注:PA 作用 SMMC-7721 细胞后,ELISA 方法检测培养上清中 MMP-2 (A)及 MMP-9 的浓度(B)。* $P<0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 8 h 后,20、50、100 μ M 组分别与对照组相比;# $P<0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 16 h 后,20、50、100 μ M 组分别与对照组相比; & $P<0.05$ PA 作用 SMMC-7721 细胞 24 h 后,20、50、100 μ M 组分别与对照组相比

Note: * $P<0.05$ 20,50,100 μ M groups compared with control group after treated with PA for 8 h; # $P<0.05$ 20,50,100 μ M groups compared with control group after treated with PA for 16 h; & $P<0.05$ 20,50,100 μ M groups compared with control group after treated with PA for 24 h

实, CD147 分子就是其中之一。CD147 为细胞外基质金属蛋白酶诱导物, 在肝癌细胞中高表达; 其主要通过刺激 MMPs 的分泌, 进而参与肝癌细胞的侵袭转移^[20]。本研究证实了 PA 能够上调 CD147(蛋白及其 mRNA)的表达, 但具体的调控机制并不清楚。迄今为止, 有关 CD147 表达调控的研究报道较少, 已经证实的有转录因子 (Sp1)、microRNA (microRNA-125b 和 microRNA-22)、启动子区 CpG 岛的局部甲基化修饰等。因此, 在下一步的研究中我们要明确 PA 是否通过转录因子和 / 或 microRNAs 上调 CD147 的表达。

CD147 刺激 MMPs 的分泌是其促进肝癌侵袭转移的机制之一。除此之外, CD147 还能够促进肝癌细胞上皮间质转化 (epithelial to mesenchymal transitions, EMT), 而 EMT 是肿瘤侵袭转移及耐药的重要机制。我们近期实验结果显示 PA 确实能够诱导 SMMC-7721 细胞发生 EMT; 但是, PA 是否影响肝癌细胞的耐药目前尚未可知。近年来, 大量证据表明肿瘤干细胞及肿瘤细胞极性的改变也与肿瘤侵袭转移密切相关^[21, 22]。因此, 我们会进一步研究 PA 是否参与肝癌干细胞的形成及细胞极性的改变。

综上所述, 本研究首次证明了 PA 通过活化 CD147-MMPs 信号通路, 促进肝癌细胞的迁移和侵袭, 且有时间 - 剂量依赖关系。因此, 在日常膳食中应注意 PA 摄入时间及剂量的累积效应。然而, PA 是否还通过其他信号通路促进肝癌的侵袭转移尚不明确。在将来的研究中, 我们拟采用体内实验及人群流行病学调查等方法明确 PA 与肝癌侵袭转移的关系。

参考文献(References)

- [1] Zhang Y, Xue R, Zhang Z, et al. Palmitic and linoleic acids induce ER stress and apoptosis in hepatoma cells [J]. *Lipids Health Dis*, 2012, 11 (1): 1-8
- [2] El-Serag H B. Hepatocellular carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365 (12): 1118-1127
- [3] Nomura Daniel K, Long Jonathan Z, Niessen Sherry, et al. Monoacylglycerol lipase regulates a fatty acid network that promotes cancer pathogenesis[J]. *Cell*, 2010, 140 (1): 49-61
- [4] Currie Erin, Schulze Almut, Zechner Rudolf, et al. Cellular fatty acid metabolism and cancer[J]. *Cell metabolism*, 2013, 18 (2): 153-161
- [5] Azrad Maria, Turgeon Chelsea, Demark-Wahnefried Wendy. Current evidence linking polyunsaturated fatty acids with cancer risk and progression[J]. *Frontiers in oncology*, 2013[Epub ahead of print]
- [6] Cockbain A J, Toogood G J, Hull M A. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for the treatment and prevention of colorectal cancer [J]. *Gut*, 2012, 61(1): 135-149
- [7] Epstein Mara M, Kasperzyk Julie L, Mucci Lorelei A, et al. Dietary fatty acid intake and prostate cancer survival in orebro County, Sweden [J]. *American journal of epidemiology*, 2012, 176 (3): 240-252
- [8] Sorongon-Legaspi Mishell Kris, Chua Michael, Sio Maria Christina, et al. Blood level omega-3 Fatty acids as risk determinant molecular biomarker for prostate cancer[J]. *Prostate cancer*, 2013[Epub ahead of print]
- [9] Fattore Elena, Fanelli Roberto. Palm oil and palmitic acid: a review on cardiovascular effects and carcinogenicity [J]. *International journal of food sciences and nutrition*, 2013, 64 (5): 648-659
- [10] Häversen L, Danielsson K N, Fogelstrand L, et al. Induction of proinflammatory cytokines by long-chain saturated fatty acids in human macrophages[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 202 (2): 382-393
- [11] De Lima-Salgado Thais Martins, Alba-Loureiro Tatiana C, Do Nascimento Caroline S, et al. Molecular mechanisms by which saturated fatty acids modulate TNF- α expression in mouse macrophage lineage [J]. *Cell biochemistry and biophysics*, 2011, 59 (2): 89-97
- [12] Li Yu, Xu Jing, Chen Li, et al. HAB18G (CD147), a cancer-associated biomarker and its role in cancer detection [J]. *Histopathology*, 2009, 54(6): 677-687
- [13] Piao Song-lin, Zhao Shu, Guo Fu-lin, et al. Increased expression of CD147 and MMP-9 is correlated with poor prognosis of salivary duct carcinoma[J]. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 2012, 138 (4): 627-635
- [14] Fu Jufang, Fu Jianfang, Chen Xiequn, et al. CD147 and VEGF co-expression predicts prognosis in patients with acute myeloid leukemia [J]. *Japanese journal of clinical oncology*, 2010, 40 (11): 1046-1052
- [15] Li Yong, Wu Jiao, Song Fei, et al. Extracellular membrane-proximal domain of HAB18G/CD147 binds to metal ion-dependent adhesion site (MIDAS) motif of integrin $\beta 1$ to modulate malignant properties of hepatoma cells [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287 (7): 4759-4772
- [16] Wu J, Ru N Y, Zhang Y, et al. HAB18G/CD147 promotes epithelial-esenchymal transition through TGF- β signaling and is transcriptionally regulated by Slug [J]. *Oncogene*, 2011, 30 (43): 4410-4427
- [17] Bassett Julie K, Severi Gianluca, Hodge Allison M, et al. Plasma phospholipid fatty acids, dietary fatty acids and prostate cancer risk [J]. *International Journal of Cancer*, 2013, 133 (8): 1882-1891
- [18] Crowe Francesca L, Allen Naomi E, Appleby Paul N, et al. Fatty acid composition of plasma phospholipids and risk of prostate cancer in a case-control analysis nested within the Euro pean Prospective Investigation into Cancer and Nutrition [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2008, 88 (5): 1353-1363
- [19] Zeng Li, Biernacka Kalina M, Holly Jeff M P, et al. Hyperglycaemia confers resistance to chemotherapy on breast cancer cells: the role of fatty acid synthase[J]. *Endocrine-related cancer*, 2010, 17(2): 539-551
- [20] Zhu Shaojun, Li Yanhong, Zhang Yang, et al. Expression and Clinical Implications of HAB18G/CD147 in Hepatocellular Carcinoma[J]. *Hepatology Research*, 2014[Epub ahead of print]
- [21] Shiozawa Yusuke, Nie Biao, Pienta Kenneth J., et al. Cancer stem cells and their role in metastasis [J]. *Pharmacology & therapeutics*, 2013, 138 (2): 285-293
- [22] Martin-Belmonte Fernando, Perez-Moreno Mirna. Epithelial cell polarity, stem cells and cancer [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12 (1): 23-38