

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.19.009

Nupr1 调控非小细胞肺癌细胞迁移、凋亡机制的研究 *

邓跃林¹ 陈艳丽² 吴华杰¹ 柴 华¹ 徐晓丽¹ 张国成^{1Δ} 史红伟³

(1 第四军医大学第一附属医院儿科 陕西 西安 710032; 2 唐都医院呼吸科 陕西 西安 710038;

3 陕西省人民医院 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨核蛋白 1(Nupr1)调控非小细胞肺癌细胞迁移、凋亡机制的研究。**方法:**肿瘤抑制剂盐酸素(salinomycin)不同时间处理非小细胞肺癌细胞 A549 后采用 Western Blot 法检测非小细胞肺癌细胞 A549 中 Cleaved Caspase-3、Nupr1 的蛋白表达; Transwell 小室检测 Nupr1 基因沉默后非小细胞肺癌细胞 A549 细胞体外迁移、侵袭能力的变化; Western Blot 法检测 Nupr1 沉默后非小细胞肺癌细胞 A549 MMP-2、TIMP-1 的蛋白表达; 流式细胞仪检测 Nupr1 沉默后非小细胞肺癌细胞 A549 的凋亡情况。**结果:**与未经肿瘤抑制剂 salinomycin 处理对照组相比较, salinomycin 处理后的非小细胞肺癌细胞 A549 中 Nupr1 蛋白表达量下降, Cleaved Caspase-3 蛋白表达量升高, 并且随着作用时间呈依赖关系。Nupr1-siRNA 转染组的迁移能力相比对照组未转染组下降(64.4±7.2)%, Nupr1-siRNA 转染组的侵袭能力相比对照组下降(58.7±7.3)%。与未转染 Nupr1-siRNA 对照组相比较, 转染后 TIMP-1 的表达明显上调, 而 MMP-2 的表达则明显下调。流式细胞仪检测结果显示 Nupr1 沉默后非小细胞肺癌细胞 A549 出现大量凋亡。**结论:**Nupr1 基因沉默后通过上调 TIMP-1 的表达, 下调 MMP-2 的表达降低肺癌 A549 细胞的侵袭和迁移能力, 进而促进非小细胞肺癌细胞凋亡。

关键词:Nupr1; 非小细胞肺癌细胞 A549; Nupr1-siRNA; 细胞凋亡

中图分类号:R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)19-3636-05

Nupr1 Regulates the Migration and Apoptosis of Non-small Cell Lung Cancer Cells*

DENG Yue-lin¹, CHEN Yan-li², WU Hua-jie¹, CHAI Hua¹, XU Xiao-li¹, ZHANG Guo-cheng^{1Δ}, SHI Hong-wei³

(1 Department of pediatrics, the First Affiliated Hospital of the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of respiration, Tangdu Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

3 The People's Hospital of Shaanxi province, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To explore the migration and apoptosis mechanism of Nupr1 in non-small cell lung cancer cells (NSCLC).

Methods: Western Blot was used to detect the protein expression of Cleaved Caspase-3 and Nupr1 in NSCLC A549 cells after treated by tumor suppressor salinomycin for different time. The Transwell inserts was applied to detect the changes of migration and invasion ability of A549 cells after silence of Nupr1. The MMP- and TIMP-1 protein expression in A549 cells were detected by western blot after Nupr1 gene silencing. The apoptosis of A549 cells after Nupr1 silencing was detected by flow cytometry. **Results:** Compared with control group which had no tumor suppressor salinomycin treatment, the Nupr1 protein expression was decreased in non-small cell lung cancer A549 cells which were treated by salinomycin, and the Cleaved Caspase-3 protein expression was increased in a time-dependent way. Migration of Nupr1-siRNA group decreased by (64.4±7.2)%, compared with control group, and the invasion ability of Nupr1-siRNA group decreased by (58.7±7.3)%. The TIMP-1 expression was significantly up-regulated and the MMP-2 expression was significantly down-regulated as compared with control group. Flow cytometry results showed that NSCLC A549 cells were largely apoptotic after Nupr1 silencing. **Conclusions:** The inhibition of Nupr1 gene expression can reduce the invasion and migration of A549 cells so that can accelerate the apoptosis of NSCLC A549 cells by up-regulating the expression of TIMP-1 and down-regulating the expression of MMP-2.

Key words: Nupr1; Non-small cell lung cancer A549 cells; Nupr1-siRNA; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)19-3636-05

前言

核蛋白 1(Nupr1)是早期从胰腺炎小鼠模型中鉴定出的一种核蛋白,带有核定位信号并具有转录活性^[1]。研究表明 Nupr1

* 基金项目:陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2016JQ8054)

作者简介:邓跃林(1985-),男,主治医师,主要从事儿科疾病研究,电话:15619278386, E-mail: sunnaikunsnk@163.com

Δ 通讯作者:张国成(1965-),男,博士生导师,主任医师,主要研究儿科神经系统及儿童肿瘤, E-mail: sunjun36666@126.com

(收稿日期:2016-11-25 接受日期:2016-12-15)

参与细胞内多种信号途径,在肿瘤的抑制和凋亡中发挥着重要作用^[2],在受到大麻酚刺激后依赖 Nupr1 的胶质瘤细胞迁移被停滞,MMP-2、TIMP-1 表达量降低^[3],Guo 等研究表明非小细胞肺癌细胞中的 Nupr1 能够促进肿瘤增殖^[4]。Nupr1 是一种多功能基因,参与到许多病理及生理途径,在不同肿瘤中其所起到的功能性作用也不相同^[5],深入研究这些 Nupr1 抗肿瘤作用机理有助于研发新的肿瘤治疗方案,本文 RNA 干扰(RNA interference, RNAi)抑制非小细胞肺癌细胞 A549 中 Nupr1 的表达,通过检测肿瘤抑制剂对 Nupr1 的影响,观察 Nupr1 基因沉默后非小细胞肺癌细胞迁移侵袭能力的变化,检测非小细胞肺癌细胞凋亡情况,探究 Nupr1 促进非小细胞肺癌细胞迁移、凋亡可能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

非小细胞肺癌细胞 A549 购自于自美国典型培养物保藏中心。F12-K 干粉、DEME 培养液、Salinomycin、胰蛋白酶和 EDTA(Sigma 公司)、小牛血清(美国 Gibco 公司)、细胞凋亡检测试剂盒、Western Blot 一抗稀释液购自于碧云天生物技术研究。Lipofectamine imax、Opti-MEM 培养基(Invitrogen 公司),PVDF 膜(Millipore 公司)。一抗(Nupr1,cleaved caspase3)(Abeam 公司)、二抗(FITC-羊抗兔)IgG(Cell signaling technology 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 从液氮中取出预冻存的非小细胞肺癌细胞 A549,置于 37℃ 水浴锅中温育 15 min,待细胞解冻后,加入 PBS 缓冲液清洗,离心后加入 5 mL 含 10%FBS 的 DEME 培养液,置于 37℃ 5% CO₂ 的培养箱中,培养至第二天更换新鲜培养基,待细胞贴壁生长至 80%时,小心吸出上层培养液,PBS 溶液清洗细胞后,800 rpm 离心 5 min,加入 0.2%胰酶和 EDTA,加入 0.5%胰酶和 EDTA 进行细胞消化,加入新鲜的 DEME 培养液终止消化,2000 rpm 离心 5 min,收集菌体,加入含小牛血清 10%的 DEME 培养基重悬细胞,按照 1:3 的比例将细胞悬浮液接种至新的培养基中进行传代培养,接种至第 3 代时可用于后续实验。

1.2.2 Western Blot 法检测非小细胞肺癌细胞 A549 中对 Cleaved Caspase-3、Nupr1 蛋白表达的影响 将生长到对数期的皮肤肿瘤细胞接种添加 10%FBS 的 DMEM 培养基中,置于 37℃ 5% CO₂ 的培养箱中培养 1 d 后,用 2.5 μM 肿瘤抑制剂 salinomycin 分别处理非小细胞肺癌细胞 A549 6 h、8 h、12 h、24 h、48 h,收集处理后的细胞,参照细胞蛋白提取试剂盒进行细胞总蛋白的提取,采用 BCA 法在核酸测定仪上进行蛋白含量的检测,将蛋白等样上样 20 μg,Marker 5 μL,浓缩胶、分离胶浓度分别为 12%、5%,待样品进入浓缩胶时电压设置为 80V,进入分离胶后电压调节至 120V,电泳结束后,将蛋白凝胶置于 TBST 溶液中清洗三次每次约 10 min,加入一抗稀释液 4℃ 下进行转膜,过夜后加入 5%脱脂牛奶进行封闭 4 h,TBST 溶液中清洗三次,加入稀释后的二抗室温下 2 h 后,加入 TBST 溶液清洗三次,每次 10 min,在蛋白凝胶成像仪中进行观察,保存实验

结果。

1.2.3 Transwell 小室检测 Nupr1 基因沉默对 A549 细胞体外迁移、侵袭能力的影响 在 NCBI 数据库中获得 Nupr1 mRNA 序列,利用 Primer5 软件设计 Nupr1 siRNA 序列:5'-GAC-CAAGCTGCAGAATTCA-3',5'-GACTCCAGCCTGGATGAAT-3',取培养至对数期的非小细胞肺癌细胞 A549,用 0.25%胰酶消化后,接种 6 孔培养板中,待细胞为单层即可,siRNA 和 lipofectamine imax 用 Opti-MEM 培养液分别稀释 200 倍,将二者混匀,室温反应 15 min,将混合液加入培养板内进行转染,37℃ 5% CO₂ 培养箱内培养 6 h,弃去上清培养液,加入新的含 10% FBS 的 Opti-MEM 培养液继续培养 12 h 后,除去上清中废弃的培养液,PBS 溶液清洗三次后,加入 0.25%胰酶消化后,加入 DEME 培养基终止消化反应,将细胞吹打为单细胞悬浮液,细胞浓度调至 10⁶ 个/mL,在 Transwell 小室的上加入 100 μL 单细胞悬浮液,在下室中加入 600 μL 含 10%FBS 的 F12K 培养液,37℃ 5% CO₂ 培养箱内培养 12 h,反应结束后用 PBS 溶液清洗小室,加入甲醇固定 5 min,加入结晶紫染色 30 min,在显微镜下计算细胞的个数。进行侵袭能力检测时,在小室的上表面加入 Matrigel,置于通风橱内使其凝固,操作方法同迁移检测方法。

1.2.4 Western Blot 法检测 Nupr1 沉默后 MMP-2、TIMP-1 表达 接种培养至对数期的非小细胞肺癌细胞 A549,接种至细胞培养板中,添加含 10%FBS 新鲜培养基,37℃ 5% CO₂ 培养箱内培养 2 d 后,800 rpm 离心 5 min,收集细胞沉淀,加入 PBS 溶液清洗 2 次,用细胞总 RNA 提取试剂盒对收集细胞进行蛋白的提取,采用 BCA 法测定蛋白浓度,配置 12%的浓缩胶、5%的分离胶,蛋白上样量统一为 10 μg,Marker 5 μL 加入等体积预变性后的上样缓冲液,待指示剂进入浓缩胶时电压调至 80 V,进入分离胶后电压调节至 120 V,电泳结束后,将蛋白凝胶用 PBS 溶液清洗三次,每次 10 min,在 NC 膜 4℃ 过夜转膜,加入脱脂牛奶 4℃ 下进行封闭 4 h,加入 TBST 稀释后的一抗,4℃ 孵育过夜,TBST 清洗三次每次约 10 min,加入稀释后的标记羊抗兔抗体室温下反应 1 h,加入 TBST 清洗三次每次约 10 min,加入 ECL 超敏发光底物,反应 10 min 后进行压片和显影,在凝胶成像仪中保存结果。

1.2.5 流式细胞仪检测 Nupr1 沉默后非小细胞肺癌细胞 A549 凋亡情况 将对数期的非小细胞肺癌细胞 A549 用胰酶处理后,接种新鲜含 10%FBS 的 DEME 溶液中将细胞培养为单层即可,用 Opti-MEM 培养液将 siRNA 和 lipofectamine imax 稀释 200 倍,二者混匀后室温放置 15 min,将混合液加入培养好的单层非小细胞肺癌细胞中进行转染,37℃ 5% CO₂ 培养箱内培养 6 h,弃去上清培养液,加入新的含 10%FBS 的 Opti-MEM 培养液继续培养 12 h 后,除去上清中废弃的培养液加入 0.25%胰酶进行消化加入 DEME 培养基终止消化反应,PBS 溶液清洗细胞将细胞吹打成单细胞悬浮液,800 rpm 离心 3 min 后收集细胞,加入 Annexin-FITC 避光反应 25 min,加入 Propidium Iodide 避光反应 5 min,在流式细胞仪机器上检测流式细胞仪检测非小细胞肺癌细胞 A549 的凋亡。

1.3 统计学分析

数据采用 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 组间差异性比较使用 GraphPad Prism5 软件 t 检验进行分析。 $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非小细胞肺癌细胞 A549 中对 Cleaved Caspase-3、Nupr1 蛋白表达的影响

与未经肿瘤抑制剂 salinomycin 处理对照组相比较, salinomycin 处理后的非小细胞肺癌细胞 A549 中 Nupr1 蛋白表达量下降, Cleaved Caspase-3 蛋白表达量升高, 并且随着作用时间呈依赖关系, Caspase-3 为凋亡蛋白, salinomycin 分别处理非小

细胞肺癌细胞, 抑制了癌细胞的增殖, 使 Caspase-3 表达量升高, 而处理前 Nupr1 比处理后表达量较为显著, 表明 Nupr1 参与非小细胞肺癌细胞 A549 的凋亡(图 1、2)。

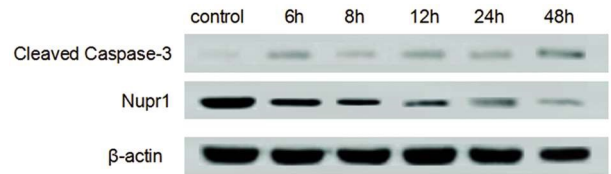


图 1 Salinomycin 不同时间处理后 Cleaved Caspase-3、Nupr1 蛋白表达
Fig.1 The protein expressions of Cleaved caspase-3 and Nupr1 after treated by Salinomycin for different time

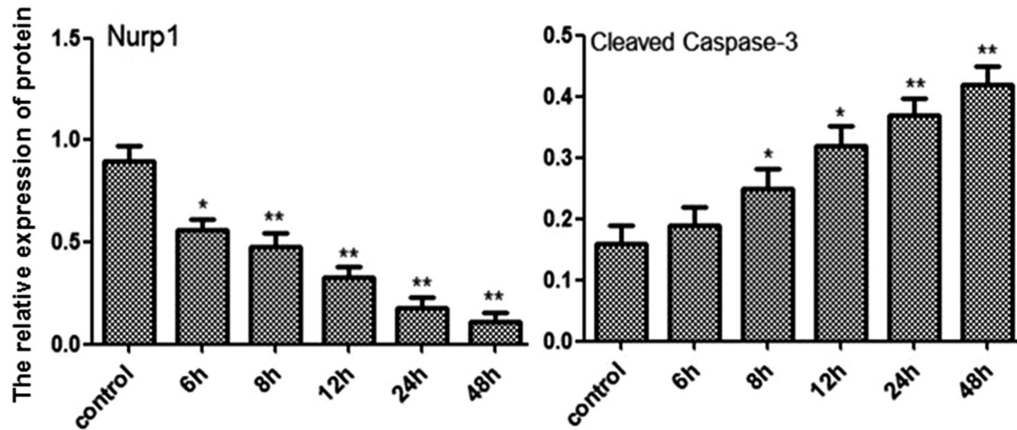


图 2 salinomycin 不同时间处理后 Cleaved Caspase-3、Nupr1 蛋白表达

Fig.2 The protein expressions of Cleaved caspase-3 and Nupr1 after treated by Salinomycin for different time

Note: compared with control group, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$.

2.2 Nupr1 基因沉默对 A549 细胞体外迁移和侵袭能力的影响

Nupr1-siRNA 转染组的迁移能力相比对照组未转染组明显减少 ($P < 0.01$), 下降了 ($64.4 \pm 7.2\%$); Nupr1-siRNA 转染组的侵袭能力相比对照组未转染组明显降低 ($P < 0.01$), 下降了

($58.7 \pm 7.3\%$), 这些结果表明由于 Nupr1 基因表达受到了明显抑制, A549 细胞体外迁移和侵袭受到了不同程度的抑制作用(图 3)。

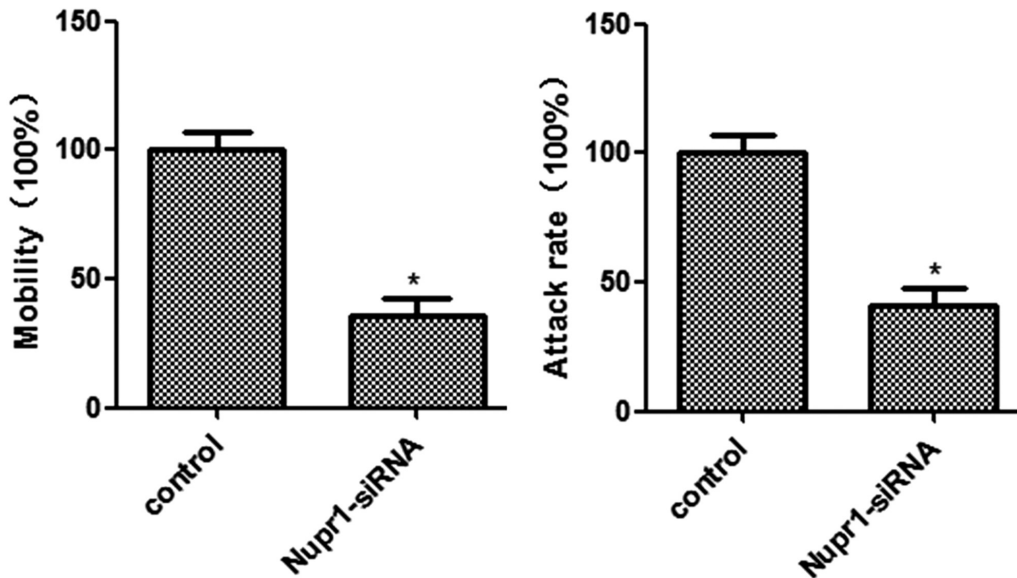


图 3 Transwell 法检测 A549 细胞迁移侵袭能力的变化

Fig.3 Transwell detection of migration and invasion capacity of A549 cells

Note: compared with control group, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$.

2.3 Nupr1 基因沉默后 MMP-2、TIMP-1 蛋白的表达

与未转染 Nupr1-siRNA 对照组相比较, 转染非小细胞肺癌

细胞 A549 后 TIMP-1 的表达明显上调,而 MMP-2 的表达则明显下调,结果表明 Nupr1 基因沉默对细胞侵袭迁移能力的抑制作用可能与抑制细胞对外基质的降解有关(图 4)。

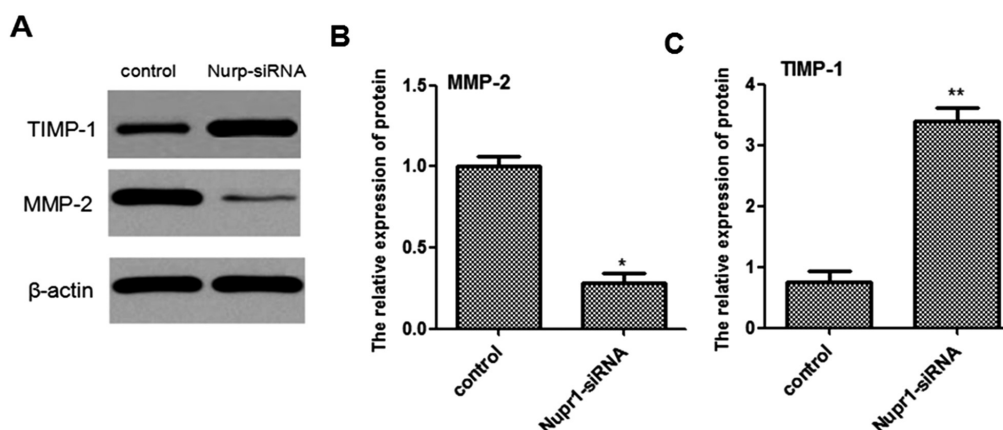


图 4 Nupr1 基因沉默后 MMP-2、TIMP-1 蛋白的表达

Fig. 4 The protein expression of MMP-2 and TIMP-1 after Nupr1 gene silencing

Note: A: the protein expressions of MMP-2 and TIMP-1 in control group that without transfecting Nupr1-siRNA and in the group with transfecting Nupr1-siRNA; B: the MMP-2 relative protein expression in control group and Nupr1-siRNA group; C: the TIMP-1 relative protein expression in control group and Nupr1-siRNA group. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.4 流式细胞仪检测 Nupr1 沉默后非小细胞肺癌细胞 A549 凋亡

活细胞对于染料 PI 具有抗性,而坏死细胞则无抗性,通过 Annexin-FITC、PI 双染色法来检测 Nupr1 沉默后非小细胞肺癌细胞 A549 凋亡,流式细胞仪检测结果(图 5),左下象限为活

细胞,右上象限是坏死细胞,右下象限为凋亡细胞。与未转染 Nupr1-siRNA 对照组相比较,Nupr1 沉默后非小细胞肺癌细胞 A549 死亡及凋亡数量明显升高。表明 Nupr1 受到干扰后能够诱导非小细胞肺癌细胞 A549 的凋亡(图 5)。

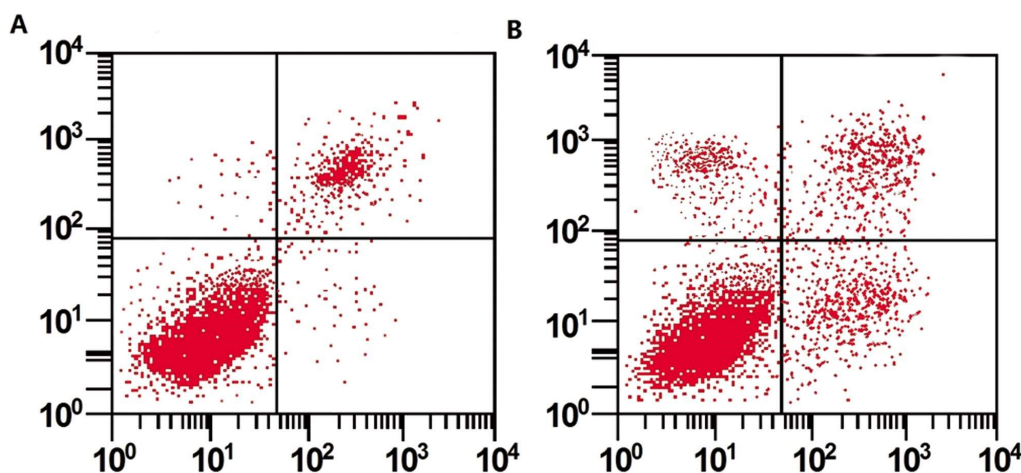


图 5 流式细胞仪检测 Nupr1 基因沉默后非小细胞肺癌细胞 A549 凋亡

Fig.5 The apoptosis of NSCLC A549 cells after Nupr1 gene silencing assessed by flow cytometry

Note: A: control group; B: transfecting Nupr1-siRNA group.

3 讨论

近年来肺癌的发病率和死亡率居于各种癌症之首,其中非小细胞肺癌(NSCLC)占 80%左右,目前肺癌的治疗手段主要是化疗、放疗等^[67]。研究肺癌细胞的迁移、与凋亡在肿瘤的抑制中有着重要意义。研究表明 Nupr1 在多种肿瘤细胞内存在差异表达通过影响,细胞的生长、凋亡及迁移等过程参与肿瘤发展^[89],如抑制肿瘤细胞的增殖、增加肿瘤细胞的耐药性^[10,11]。细胞增殖早期 Nupr1 主要分布于细胞核内;细胞数目逐渐增高

时,则逐渐分布于胞浆中,这可能与 Nupr1 自身特性核蛋白相关。本文研究发现沉默 Nupr1 基因后可以促进非小细胞肺癌细胞 A549 凋亡,表明 Nupr1 可能为肺癌细胞的凋亡因子。

为研究非小细胞肺癌细胞受到抑制后对 Nupr1 基因的影响,实验前期加入 Salinomycin (盐霉素),Salinomycin 是能特异性杀死肿瘤干细胞的化合物^[12],也能够诱导人的非小细胞肺癌细胞凋亡,致使 MAP1LC3B 蛋白表达明显下调从而抑制 MTOR 通路^[13]。本研究通过加入 Salinomycin 后通过 Western Blot 检测发现 Nupr1 蛋白表达量下降,Cleaved Caspase-3 蛋白

表达量升高,Caspase-3 为凋亡蛋白 是细胞凋亡发生的关键酶及一切凋亡信号传导的共同通路^[4],标志着细胞凋亡进入不可逆阶段;表明加入 Salinomycin 后小细胞肺癌细胞发生凋亡,而 Nupr1 表达量显著下降,表明 Nupr1 参与非小细胞肺癌细胞 A549 的凋亡。Guo 等发现 Nupr1 在非小细胞肺癌(A459, 1299, 95-D)及相应癌旁组织中均有表达,进一步研究发现沉默 Nupr1 基因的表达后,非小细胞肺癌的增殖速率受到显著抑制,肿瘤细胞数目和集落中细胞数目明显出现大量的减少表明 Nupr1 在非小细胞肺癌中能够促进肿瘤生长^[15]。

肺癌转移与侵袭是一个多基因调控复杂的过程,其中包含与迁移与侵袭相关基因结构、功能的异常^[6],基因被激活或抑制会使得对应的功能发生拮抗、失活等,均会导致肺癌细胞的转移^[7]。胞外基质分解肺癌转移与侵袭发生的主要原因之一,其中 MMPs 发挥着重要作用^[8],有研究表明小细胞癌的MMP-2 及 MMP-9 蛋白表达量明显高于腺癌,且淋巴结转移患者癌组织中二者的表达量明显高于未转移者,这些研究结果表明 MMP-2 及 MMP-9 与癌细胞的转移相关^[9]。本实验采用 Transwell 小室检测 Nupr1 基因沉默后非小细胞肺癌 A549 细胞体外迁移、侵袭能力的变化,结果表明 Nupr1 基因沉默后迁移和侵袭能力均下降,主要因为 Nupr1 基因抑制后抑制了癌细胞的增殖,从而使非小细胞肺癌 A549 细胞体外迁移、侵袭能力下降。Nupr1 基因沉默后 MMP-2 蛋白的表达量下降、TIMP-1 蛋白的表达量升高,表明 Nupr1 基因沉默后使细胞质基质内金属蛋白酶结构或功能发生了改变,避免了癌细胞转移时发生胞外机制过度降解,降低了细胞的浸润与转移。

Nupr1 基因沉默后通过抑制细胞增殖、降低细胞迁移侵袭能力以及改变肺癌细胞外基质金属蛋白酶的蛋白表达等共同作用使非小细胞肺癌细胞 A459 凋亡,但分子机制尚有待进一步深入研究。

参考文献(References)

- [1] Grasso D, Garcia M N, Hamidi T, et al. Genetic inactivation of the pancreatitis-inducible gene Nupr1 impairs PanIN formation by modulating KrasG12D-induced senescence [J]. Cell Death & Differentiation, 2014, 21(10): 1633-1641
- [2] Lee Y K, Jee B A, Kwon S M, et al. Identification of a mitochondrial defect gene signature reveals NUPR1 as a key regulator of liver cancer progression[J]. Hepatology, 2015, 62(4): 1174-1189
- [3] Huang H, Zhang Y, Wang X, et al. Nuclear protein 1 knockdown inhibits proliferation and migration of HepG2 cells[J]. Chinese journal of cellular and molecular immunology, 2015, 31(6): 782-786
- [4] Guo Xiao-tong, Wang Wei, He Jing, et al. Lentivirus-Mediated RNAi Knockdown of NUPR1 Inhibits Human Nonsmall Cell Lung Cancer Growth In Vitro, and In Vivo[J]. Anatomical Record Advances in Integrative Anatomy & Evolutionary Biology, 2012, 295 (12): 2114-2121
- [5] Fan X, Zhang Z, Gao H, et al. Genetic inactivation of the pancreatitis-inducible gene, Nupr1 impairs PanIN formation by modulating Kras G12D -induced senescence Open [J]. Cell Death & Differentiation, 2014, 21(2): 1633-1641
- [6] Shi Shao-min, Wang Jing, Zhao Jian-jun, et al. The effect of proliferation and apoptosis after siRNA myocyte-specific enhancer factor 2 D on human lung cancer cell [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2016, 36(12): 2873-2875
- [7] Song ZY, Zhang YY, Li TW, et al. Concurrent Radiotherapy with Weekly Dose of Docetaxel in the Treatment of Stage III Non-small Cell Lung Cancer[J]. Anti-tumor Pharm, 2015, 5(1): 46-50
- [8] Mariño G, Nisosantano M, Baehrecke E H, et al. Self-consumption: the interplay of autophagy and apoptosis[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2014, 15(2): 81-94
- [9] Zhao Chun-lan, Wang Wei-na. The research progress of Nupr1 nucleoprotein [J].Chinese Medical Journal of Coal Industry, 2016, 18(3): 493-497
- [10] Urrutia R, Velez G, Lin M, et al. Evidence supporting the existence of a NUPR1-like family of helix-loop-helix chromatin proteins related to, yet distinct from, AT hook-containing HMG proteins[J]. Journal of Molecular Modeling, 2014, 20(8): 107-111
- [11] Zhang R, Yao F, Cheng C, et al. Expression and roles of As -NUPR1 protein from Artemia sinica, during embryo development and in response to salinity stress [J]. Molecular Biology Reports, 2014, 41(5): 3465-3473
- [12] Zhang W, Wu J, Li B, et al. Synthesis and biological activity evaluation of 20- salinomycin and its 20- -acyl derivatives[J]. Rsc Advances, 2016, 6(48): 41885-41890
- [13] Li Tian-liang. The autophagy and apoptosis molecular mechanism of endoplasmic reticulum stress-related genes DDIT3 regulating the tumor cell[D]. Shan Dong University, 2014
- [14] Clark D W, Tripathi K, Dorsman J C, et al. FANCD2/FANCI proteins are important for the stability of FANCD2/FANCI proteins and protects them from proteasome and caspase-3 dependent degradation [J]. Oncotarget, 2015, 6(30): 28816-28832
- [15] Vatakuti S, Schoonen W G E J, Elferink M L G, et al. Acute toxicity of CCl 4 but not of paracetamol induces a transcriptomic signature of fibrosis in precision-cut liver slices [J]. Toxicology in Vitro, 2015, 29 (5): 1012-1020
- [16] Hui K L, Png I P L. Research Note-Migration of Service to the Internet: Evidence from a Federal Natural Experiment[J]. Information Systems Research, 2015, 26(3): 606-618
- [17] Liao C, Lin J, Lien J, et al. The crude extract of Corni Fructus inhibits the migration and invasion of U-2 OS human osteosarcoma cells through the inhibition of matrix metalloproteinase-2/-9 by MAPK signaling[J]. Environmental Toxicology, 2015, 30(1): 53-63
- [18] Kato M T, Bolanho A, Zarella B L, et al. Sodium Fluoride Inhibits MMP-2 and MMP-9 [J]. Journal of Dental Research, 2014, 93(1): 74-77
- [19] Radenkovic S, Konjevic G, Jurisic V, et al. Values of MMP-2 and MMP-9 in Tumor Tissue of Basal-Like Breast Cancer Patients [J]. Cell Biochemistry & Biophysics, 2014, 68(1): 143-152