

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.10.007

· 基础研究 ·

石斛酚通过NF- κ B/PRL-3通路抑制骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭

范兆阳¹, 鲜文峰¹, 刘永喜¹, 张超² (1. 南阳市第二人民医院 骨科, 河南 南阳 473000; 2. 河南省人民医院 骨科, 河南 郑州 450003)

[摘要] **目的:** 探讨石斛酚对人成骨肉瘤 U2OS 细胞增殖、迁移及侵袭的抑制作用及其分子机制。**方法:** 用不同质量浓度 (10、25、50、75、100、150 $\mu\text{mol/L}$) 的石斛酚处理 U2OS 细胞 24、48 h 后, 用 CCK-8 法检测石斛酚对 U2OS 细胞增殖能力的影响。Transwell 实验检测 25、50 $\mu\text{mol/L}$ 的石斛酚对 U2OS 细胞迁移、侵袭能力的影响, 在脂多糖 (LPS) 诱导 U2OS 细胞炎症反应的基础上, 再以石斛酚处理, qPCR、WB 法分别检测 U2OS 细胞中 NF- κ B (p65)、TNF- α 、IL-6、PRL-3 mRNA 和蛋白的表达水平。**结果:** 不同质量浓度的石斛酚作用不同时间对肉瘤细胞 U2OS 增殖均具有抑制作用 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 25、50 $\mu\text{mol/L}$ 的石斛酚能够明显抑制骨肉瘤 U2OS 细胞的迁移及侵袭能力 (均 $P < 0.01$), 同时能够抑制细胞中 NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3 等蛋白的表达 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); LPS 诱导后, U2OS 细胞中 NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3 mRNA 和蛋白表达水平均显著升高 (均 $P < 0.01$), 25、50 $\mu\text{mol/L}$ 的石斛酚处理后均能够降低 U2OS 细胞中 NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3 mRNA 和蛋白的表达水平 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。 **结论:** 石斛酚对骨肉瘤 U2OS 细胞增殖、迁移和侵袭具有抑制作用, 其作用机制可能与调控 NF- κ B/PRL-3 信号通路有关。

[关键词] 石斛酚; 骨肉瘤; U2OS 细胞; 增殖; 侵袭; 迁移; NF- κ B; PRL-3

[中图分类号] R738.1; R730.52 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2019)10-1095-06

Gigantol inhibits the proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells by NF- κ B/PRL-3 pathway

FAN Zhaoyang¹, XIAN Wenfeng¹, LIU Yongxi¹, ZHANG Chao² (1. Department of Orthopedics, the Second People's Hospital of Nanyang City, Nanyang 473000, Henan, China; 2. Department of Orthopedics, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan, China)

[Abstract] Objective: To study the inhibitory effect of gigantol on proliferation, migration and invasion of human osteosarcoma U2OS cells and to explore the mechanism. **Methods:** After being treated with different concentrations (10, 25, 50, 75, 100, 150 $\mu\text{mol/L}$) of gigantol for 24 and 48 h, the proliferation of U2OS cells was detected by CCK-8 assay. Transwell assay was used to detect the effects of 25 $\mu\text{mol/L}$ and 50 $\mu\text{mol/L}$ gigantol on the migration and invasion abilities of U2OS cells. The lipopolysaccharide (LPS) was used to induce inflammatory reaction in U2OS cells before gigantol treatment; qPCR and WB were used to detect the mRNA and protein expressions of NF- κ B (p65), TNF- α , IL-6 and PRL-3, respectively. **Results:** Different concentrations of gigantol could all inhibit the proliferation of sarcoma U2OS cells at different time ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The 25 $\mu\text{mol/L}$ and 50 $\mu\text{mol/L}$ of gigantol could significantly inhibit the migration and invasion of osteosarcoma U2OS cells (all $P < 0.01$); at the same time, it could inhibit the protein expressions of NF- κ B, TNF- α , IL-6 and PRL-3 ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). After LPS induction, the mRNA and protein expressions of NF- κ B, TNF- α , IL-6 and PRL-3 in U2OS cells were significantly increased (all $P < 0.01$); however, the consequent treatment with gigantol (25 and 50 $\mu\text{mol/L}$) reversed the effects of LPS on U2OS cells obviously ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Gigantol can inhibit the proliferation, migration and invasion of osteosarcoma U2OS cells, and its mechanism may be related to the regulation of NF- κ B/PRL-3 signaling pathway.

[Key words] gigantol; osteosarcoma; U2OS cell; proliferation; invasion; migration; NF- κ B; PRL-3

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(10): 1095-1100. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.10.007]

[基金项目] 河南省科技发展计划资助项目 (No.142102310453)。Project supported by the Henan Science and Technology Development Plan Funding Project (No.142102310453)

[作者简介] 范兆阳 (1983-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事骨科肿瘤的临床研究, E-mail: 3219475665@qq.com

[通信作者] 刘永喜 (LIU Yongxi, corresponding author), 学士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事骨科肿瘤的临床研究, E-mail: 1207675582@qq.com

骨肉瘤起源于原始骨形成间充质细胞,是青少年或儿童中最常见的原发性骨恶性肿瘤,其病死率占儿童和青少年癌症死亡的8.9%^[1-3]。该病具有恶性程度高、预后差和易转移(常见肺部转移)的特点,严重危害人类健康^[4]。因此,探寻有效的药物抑制骨肉瘤细胞增殖、侵袭与转移,对于防治骨肉瘤具有重要的意义。石斛酚(gigantol)是中国名贵药材石斛中提取分离的一种主要活性成分^[5]。研究^[6-7]表明,石斛酚是核转录因子 κB (NF- κB)的选择性抑制剂,具有抗炎、改善糖尿病、抗肿瘤等多种药理学作用。肿瘤微环境对肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移具有重要的作用,其中NF- κB 等炎症信号通路存在于大多数肿瘤中,能够产生多种炎症因子,促进肿瘤细胞增殖及侵袭转移^[8-9]。肝细胞再生磷酸酶3(phosphatase of regenerating liver-3, PRL-3)是PTP4A3基因编码的一种蛋白酪氨酸磷酸酶,是肿瘤转移的分子标志物^[10]。激活NF- κB 能够促进PRL-3高表达,促进结肠癌细胞侵袭与转移^[11]。本研究通过观察石斛酚对骨肉瘤细胞U2OS增殖、侵袭及迁移的抑制作用并探讨其作用机制,旨在为石斛酚防治骨肉瘤提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株、药品及主要试剂

人成骨肉瘤细胞U2OS购自中国科学院生物化学与细胞生物学研究所。在含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素的DMEM培养基(以下简称“培养基”),在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养。

石斛酚(批号:B21163,纯度>95%)购自上海源叶生物科技有限公司。

胎牛血清(FBS)、DMEM高糖培养基、胰蛋白酶、青-链霉素等购自美国Gibco公司,CCK-8试剂盒购自日本同仁化学研究所,NF- κB (p65)、TNF- α 、IL-6、PRL-3、 β -actin等mRNA上下游引物和探针由湖北百奥斯生物科技有限公司设计并合成,qPCR试剂购于上海星汉生物公司,NF- κB 鼠单克隆抗体、TNF- α 兔单克隆抗体、IL-6兔单克隆抗体、PRL-3兔多克隆抗体、 β -actin兔单克隆抗体、辣根过氧化物酶(HRP)的羊抗兔IgG二抗等购自美国CST公司,BCA蛋白定量试剂盒、ECL超敏化学发光液、蛋白提取试剂盒、RNA提取试剂购自美国Thermo Fisher Scientific公司,SDS-PAGE凝胶试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 药物配置、分组、造模及给药

石斛酚溶液配制:精密称取石斛酚标准品30.4 mg溶于1 ml二甲基亚砜中,配成浓度为100 mmol/L的石斛酚标准品母液,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,用时取适量石斛

酚母液加培养基稀释至浓度为10 mmol/L的石斛酚工作液,过0.22 μm 微孔滤膜即可。

取对数生长期骨肉瘤U2OS细胞,接种于培养皿中,设对照组和石斛酚低高剂量(25、50 $\mu\text{mol}/\text{L}$)药物组,不同剂量的石斛酚给药作用24 h后,收集细胞用于检测分析。

1.3 CCK-8实验检测石斛酚对U2OS细胞增殖的影响

取对数生长期骨肉瘤U2OS细胞,经胰酶消化后制成细胞悬液并用细胞计数器计数,以 4×10^3 个/孔铺于96孔板中(每孔体积100 μl)。设置对照组及不同质量浓度的石斛酚药物组,每组设置6个复孔。药物组分别加入终浓度为10、25、50、75、100、150 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 石斛酚液,对照组给予同体积的培养基,另设不含细胞只含培养基的空白组。给药24、48 h后,弃去培养基,用37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的PBS清洗后,每孔加入CCK-8试剂(10 μl CCK-8试剂+90 μl 培养基)后继续培养2 h。于酶标仪测定450 nm波长处光密度(D)值,计算细胞增殖率。细胞增殖率=(A给药-A空白)/(A对照-A空白) $\times 100\%$ 。

1.4 Transwell实验检测石斛酚对U2OS细胞迁移及侵袭的影响

细胞迁移实验:将对数生长期骨肉瘤细胞U2OS运用DMEM培养基培养,使U2OS细胞处于饥饿状态。设对照组及石斛酚低、高剂量药物组(25、50 $\mu\text{mol}/\text{L}$),不同剂量的石斛酚给药作用24 h后,用胰酶消化细胞后用DMEM培养基制备细胞悬液,按 1×10^5 个细胞/孔,体积200 μl 加入到Transwell小室中,小室下层加入800 μl 10%胎牛血清培养基,培养24 h后,取出小室,用棉签擦去小室内侧底部的细胞,并放置于4%多聚甲醛中固定,用0.1%结晶紫染色20 min,显微镜下观察,计数穿膜细胞数。细胞侵袭实验:将Matrigel基质胶用PBS稀释成1 mg/ml浓度,取50 ml平铺于Transwell小室聚碳酸酯膜上,37 $^{\circ}\text{C}$ 静置60 min,使其聚合成凝胶。其余步骤同细胞迁移。

1.5 WB检测石斛酚对U2OS细胞NF- κB /PRL-3通路相关蛋白表达的影响

取对数生长期骨肉瘤U2OS细胞,用LPS诱导骨肉瘤细胞U2OS产生炎症反应(作为LPS组),分别用25、50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 石斛酚作用24 h后,提取细胞蛋白,BCA试剂盒检测蛋白浓度。取40 μg 蛋白样品经过SDS-PAGE、转PVDF膜,5%脱脂牛奶封闭1 h后,加入NF- κB (1:1 000)、TNF- α (1:1 000)、IL-6(1:1 000)、PRL-3(1:1 000)等一抗,在4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下摇床孵育过夜,TBST清洗3次(10 min/次),加入HRP标记的羊抗兔IgG二抗(1:10 000)室温下继续孵育1 h,用TBST清洗3次(10 min/次),ECL显色后用凝胶成像

系统获得蛋白条带,以 β -actin作为内参。采用Image J图像软件进行灰度值分析。

1.6 qPCR检测U20S细胞中NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3 mRNA的表达水平

取骨肉瘤U20S细胞,用LPS诱导骨肉瘤细胞U20S产生炎症反应(作为LPS组),分别用25、50 μ mol/L石斛酚给药作用后收集细胞。用RNA提取试剂盒提取细胞中RNA,逆转录成cDNA后用qPCR检测NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3 mRNA的表达水平。引物序列: NF- κ B(p65)为GCCGAAAGACCTATCCC, R为CTCATAGAACCGAACCTCAA; TNF- α F为GGCCAACGGCATGGATCT, R为GGCAGCCTTGTCCCTTGAA; IL-6 F为ATGAACTCCTTCTCCAAGCGC, R为GAAGAGCCCTCAGGCTGGACTGG; PRL-3 F为GGGACTTCTCAGGTCGTGTC, R为AGCCCCGTACTTCTTCAGGT; β -actin F为GTC-CACCGCAAATGCTTCTA, R为TGCTGTCACCTT CACCGTTC。PCR扩增条件(反应体系为10 μ l): 95 $^{\circ}$ C预变性2 min, 95 $^{\circ}$ C变性10 s, 62 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸15 s,共40个循环,以 β -actin为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因mRNA的相对表达水平。

1.7 统计学处理

1.3~1.6实验均重复6次。用SPSS 13.0统计学软件对实验数据进行统计分析,计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

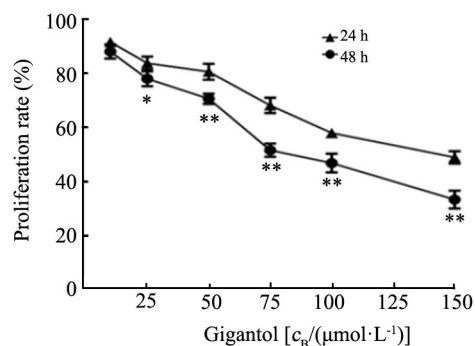
2.1 石斛酚抑制U20S细胞的增殖能力

CCK-8法检测结果(图1)显示,随着石斛酚给药浓度增大及作用时间的延长,骨肉瘤U20S细胞增殖率依次降低。当50 μ mol/L石斛酚作用24、48 h后,U20S细胞的增殖率分别为82.8%、70.6%,当超过50 μ mol/L时,细胞增殖率均低于70%,表明石斛酚对U20S细胞增殖具有抑制作用($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。综合以上结果,后续实验选择25、50 μ mol/L作用24 h作为石斛酚的给药条件。

2.2 石斛酚显著抑制U20S细胞侵袭、迁移能力

Transwell实验结果(图2)所显示,与对照组比较,25、50 μ mol/L石斛酚作用后,小室外细胞数量显著减少,骨肉瘤U20S细胞的迁移、侵袭能力显著低于对照组[迁移:(100.63 \pm 11.63) vs (148.97 \pm 8.71)个, $t=8.148$, $P<0.01$;(91.24 \pm 5.45) vs (148.97 \pm 8.71)个, $t=13.760$, $P<0.01$;侵袭:(89.13 \pm 5.52) vs (125.53 \pm 10.98)个, $t=7.254$, $P<0.01$;(74.01 \pm 7.58) vs (125.53 \pm

10.98)个, $t=9.461$, $P<0.01$]。结果表明,石斛酚对U20S细胞的迁移及侵袭具有抑制作用。



* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs 24 h group

图1 不同浓度的石斛酚对U20S细胞增殖的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of gigantol on the proliferation of U20S cells

2.3 石斛酚降低U20S细胞中NF- κ B/PRL-3通路相关蛋白的表达水平

WB检测结果(图3)显示,25、50 μ mol/L石斛酚处理24 h后,U20S细胞中NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3蛋白的表达水平显著低于对照组($t=2.161$ 、8.285、6.186、5.271、4.927、10.854、5.914、6.084, $P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.4 石斛酚对LPS诱导U20S细胞中NF- κ B/PRL-3通路相关蛋白表达的影响

用LPS诱导骨肉瘤细胞U20S产生炎症反应,25、50 μ mol/L石斛酚作用24 h后,WB检测结果(图4)显示,与对照组比,LPS诱导的LPS组U20S细胞中NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3等蛋白表达升高($t=11.382$ 、5.921、8.175、13.943,均 $P<0.01$);与LPS组比,25、50 μ mol/L石斛酚作用24 h后均能够降低U20S细胞NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3等蛋白的表达水平($t=14.375$ 、8.167、2.386、11.382,19.642、15.086、5.974、7.062, $P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.5 石斛酚对LPS诱导U20S细胞中NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3 mRNA表达的影响

qPCR检测结果(图5)显示,与对照组比,LPS诱导24 h后,LPS组U20S细胞中NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3 mRNA表达水平显著升高($t=9.314$ 、10.085、19.352、18.056,均 $P<0.01$);与LPS组比,25、50 μ mol/L石斛酚作用24 h后均能够降低NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3 mRNA表达水平($t=2.371$ 、2.098、5.924、9.117、3.867、5.086、7.154、12.053, $P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

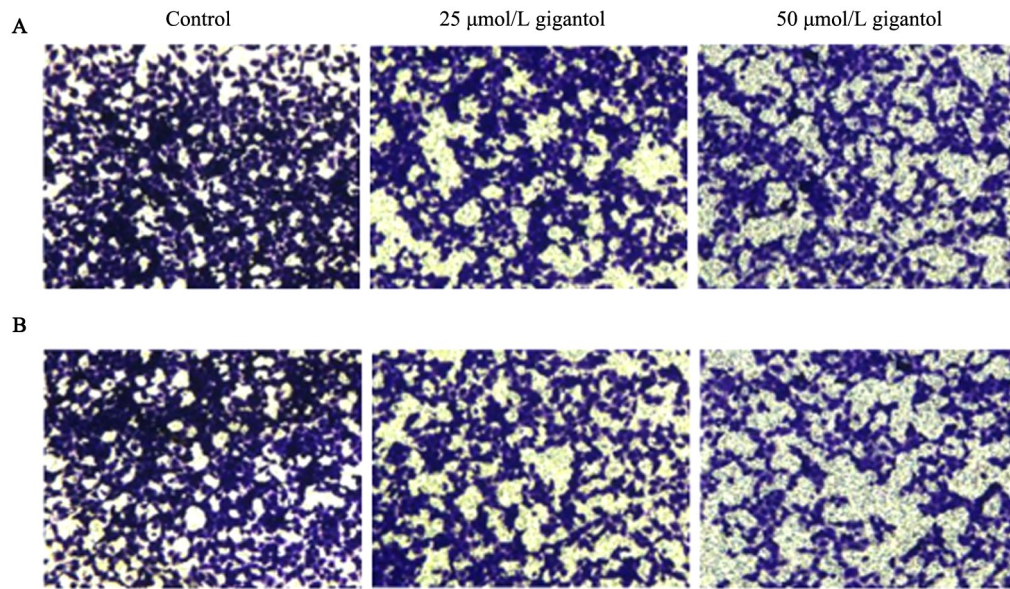
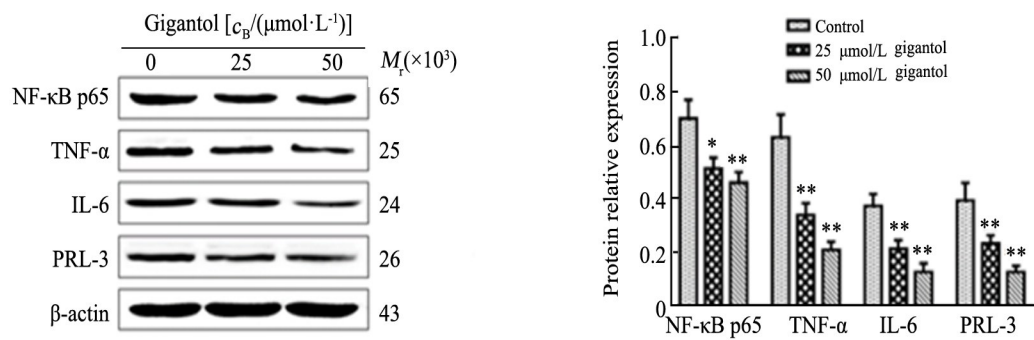


图2 石斛酚对U2OS细胞迁移(A)及侵袭(B)能力的影响(结晶紫染色,×200)

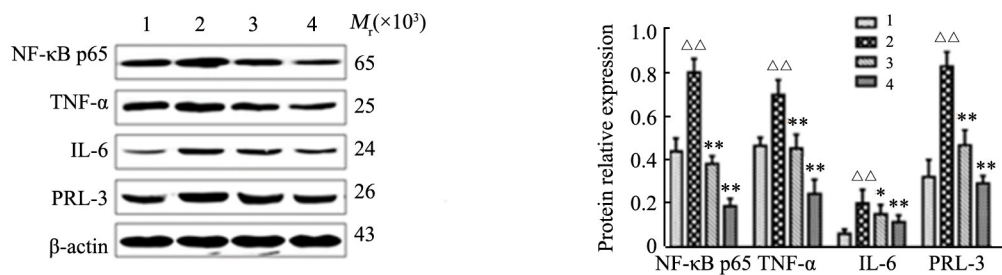
Fig.2 Effect of gigantol on migration (A) and invasion (B) of U2OS cells (crystal violet staining,×200)



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Control group

图3 石斛酚对U2OS细胞中NF-κB/PRL-3通路相关蛋白表达的影响

Fig.3 Effect of gigantol on the expression of NF-κB/PRL-3 pathway related proteins in U2OS cells



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs LPS group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs Control group

1: Control group; 2: LPS group; 3: LPS+25 μmol/L gigantol group; 4: LPS+50 μmol/L gigantol group

图4 石斛酚对LPS诱导U2OS细胞中NF-κB/PRL-3通路相关蛋白表达的影响

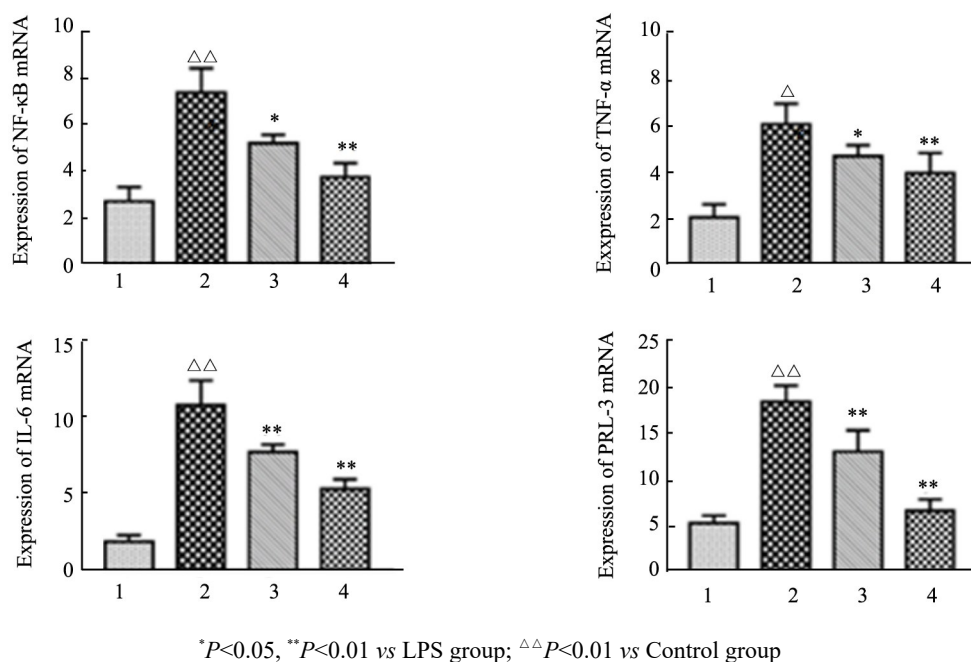
Fig.4 Effect of gigantol on the expression of NF-κB/PRL-3 pathway related proteins in U2OS cells induced by LPS

3 讨论

骨肉瘤是一种常见的恶性肿瘤,转移性强,早期易肺部转移,预后差,严重威胁人类健康^[13]。目前治

疗骨肉瘤的方法较多,包括截肢手术、保肢手术、化疗、药物治疗等,但较好的治疗骨肉瘤的方法仍然是截肢手术,给患者带下来了巨大的痛苦与不便^[14-15]。近年来,中药活性成分在防治恶性肿瘤领域备受关

注,因此探寻有效防治骨肉瘤的中药具有重要意义。



1: Control group; 2: LPS group; 3: LPS+25 $\mu\text{mol/L}$ gigantol group; 4: LPS+50 $\mu\text{mol/L}$ gigantol group

图5 石斛酚对LPS诱导U20S细胞中相关基因mRNA表达水平的影响

Fig.5 Effect of gigantol on mRNA expression of related genes in U20S cells induced by LPS

骨肉瘤具有较强的侵袭转移能力,有研究^[16]表明,在骨肉瘤中PRL-3高表达。PRL-3作为肿瘤侵袭转移的标志物,对于肿瘤侵袭、转移具有重要作用。PRL-3基因在恶性肿瘤组织中比在正常组织中表达水平显著升高,其在转移性肿瘤中比在原发性肿瘤中的表达水平升高。研究^[17]表明,PRL-3能够调节上皮细胞间质化相关因子及细胞黏附相关因子的活性,从而使肿瘤细胞的黏附能力减弱,促进肿瘤细胞的迁移与侵袭。炎症微环境在肿瘤转移进程中具有重要作用。炎症信号通路激活能够释放一系列炎症因子,如TNF- α 、IL-6等,促进细胞外基质的降解,激活肿瘤细胞EMT,促进肿瘤细胞增殖和侵袭转移^[18-19]。因此,调控NF- κ B/PRL-3通路调节肿瘤细胞增殖、侵袭转移正成为防治肿瘤的重要途径。

石斛酚是名贵中药石斛的主要活性成分之一,是NF- κ B的选择性抑制剂^[6,20],具有多种药理学作用。本实验结果表明,不同浓度的石斛酚能够抑制骨肉瘤细胞U20S增殖、迁移及侵袭,对骨肉瘤细胞U20S中NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3等蛋白的表达具有抑制作用;运用LPS诱导骨肉瘤细胞U20S产生炎症反应后,NF- κ B/PRL-3通路被激活,加入不同浓度的石斛酚作用后均能抑制NF- κ B、TNF- α 、IL-6、PRL-3等基因的表达,抑制炎症反应及炎症因子的释放,降低PRL-3的表达水平,发挥抑制骨肉瘤细胞U20S增殖、

迁移与侵袭的作用。

综上,石斛酚对骨肉瘤细胞U20S增殖、迁移与侵袭具有抑制作用,其作用机制可能与调控NF- κ B/PRL-3信号通路有关。

[参考文献]

- [1] 李磊,寇玉,杨宇,等.青少年和儿童骨肉瘤患者预后影响因素分析[J].广东医学,2015,36(18):2809-2811. DOI:10.13820/j.cnki.gdyx.2015.18.016.
- [2] 刘锐,董文刚,王飞,等.miR-215抑制骨肉瘤细胞生长及其分子机制[J].现代肿瘤医学,2019,27(9):1472-1476.
- [3] OTTAVIANI G, JAFFE N. The epidemiology of osteosarcoma[M]//Cancer Treatment and Research. Boston, MA: Springer US, 2009: 3-13. DOI:10.1007/978-1-4419-0284-9_1.
- [4] 郝俊龙,王亚鹏,杨凯,等.葡萄糖转运蛋白-1通过Wnt/ β -catenin通路促进骨肉瘤MG63细胞迁移[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2018,25(5):469-474. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018.05.005.
- [5] CHAROENRUNGRUANG S, CHANVORACHOTE P, SRITULARAK B, et al. Gigantol, a bibenzyl from *Dendrobium Draconis* inhibits the migratory behavior of non-small cell lung cancer cells [J]. J Nat Prod, 2014, 77(6): 1359-1366. DOI:10.1021/np500015v.
- [6] CHEN H H, HUANG Y C, HUANG J B, et al. Gigantol attenuates the proliferation of human liver cancer HepG2 cells through the PI₃K/Akt/NF- κ B signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2017, 37(2): 865-870. DOI:10.3892/or.2016.5299.
- [7] UNAHABHOKHA T, CHANVORACHOTE P, PONGRAKHANANON V. The attenuation of epithelial to mesenchymal transition and in-

- duction of anoikis by gigantol in human lung cancer H460 cells[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(7): 8633-8641. DOI:10.1007/s13277-015-4717-z.
- [8] 唐亚尼, 孙洋, 叶茂. 炎症反应促进肿瘤的侵袭和转移的研究进展[J]. *生命科学研究*, 2015, 19(2): 160-164. DOI:10.16605/j.cnki.1007-7847.2015.02.014.
- [9] ECHIZEN K, OSHIMA H, NAKAYAMA M, et al. The inflammatory microenvironment that promotes gastrointestinal cancer development and invasion[J]. *Adv Biol Regul*, 2018, 68: 39-45. DOI: 10.1016/j.jbior.2018.02.001.
- [10] GUZIŃSKA-USTYMOWICZ K, PRYCZYNICZ A, KEMONA A, et al. Immunohistochemical assessment of PRL-3 (PTP4A3) expression in tumor buds, invasion front, central region of tumor and metastases of colorectal cancer[J]. *Adv Med Sci*, 2011, 56(1): 39-43. DOI:10.2478/v10039-011-0015-1.
- [11] YE H C, HUANG C N, LI C C, et al. Overexpression of PTP4A3 is associated with metastasis and unfavorable prognosis in bladder cancer[J]. *World J Urol*, 2016, 34(6): 835-846. DOI: 10.1007/s00345-015-1698-x.
- [12] 牛啸博. MAPK 途径在脂多糖对骨肉瘤细胞增殖过程中的作用机制研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2017.
- [13] 陈天成, 张晓宇. 骨肉瘤治疗措施的研究进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(4): 47-48, 67. DOI:10.19613/j.cnki.1671-3141.2019.4.024.
- [14] 张德绸, 王廷帆, 葛建华. 骨肉瘤最新治疗及研究进展[J]. *西南医科大学学报*, 2018, 41(5): 473-476.
- [15] 康宇翔, 任志鹏. lncRNA HIT 对骨肉瘤组织和细胞 U2OS 顺铂抵抗的影响及其机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(12): 1296-1302. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.12.014
- [16] AL-AIDAROOS A Q, ZENG Q. PRL-3 phosphatase and cancer metastasis[J]. *J Cell Biochem*, 2010, 111(5): 1087-1098. DOI:10.1002/jcb.22913.
- [17] 郭瑜冰, 徐丹, 孙野青, 等. PTP4A3 基因对肿瘤生长及转移的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(11): 2103-2109. DOI:10.3969/j.issn.1000-4718.2017.11.030.
- [18] WU Y D, ZHOU B P. Inflammation: a driving force speeds cancer metastasis[J/OL]. *Cell Cycle*, 2009, 8(20): 3267-3273[2019-05-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3702728/>. DOI: 10.4161/cc.8.20.9699.
- [19] LIN W W, KARIN M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(5): 1175-1183. DOI:10.1172/jci31537.
- [20] CHEN M F, LIOU S S, HONG T Y, et al. Gigantol has protective effects against high glucose-evoked nephrotoxicity in mouse glomerulus mesangial cells by suppressing ROS/MAPK/NF- κ B signaling pathways[J/OL]. *Molecules*, 2018, 24(1): E80[2019-05-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6337535/>. DOI: 10.3390/molecules24010080.

[收稿日期] 2019-05-22

[修回日期] 2019-08-22

[本文编辑] 党瑞山