

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.09.009

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20190123.1117.007.html(2019-01-24)

## 乌司他丁对人卵巢癌 HO-8910PM 细胞转移和侵袭的影响\*

李燕<sup>1</sup>, 李贵妃<sup>2</sup>

(1. 成都市妇女儿童中心医院妇产科, 成都 610031; 2. 湖南师范大学医学院, 长沙 410006)

**[摘要]** **目的** 探讨乌司他丁(UTI)对高转移人卵巢癌细胞 HO-8910PM 转移和侵袭能力的影响及其作用机制。**方法** 培养 HO-8910PM 细胞,根据 UTI 剂量不同分为对照组及 UTI 低剂量组(400 U/mL UTI)、中剂量组(800 U/mL UTI)、高剂量组(1 600 U/mL UTI),通过划痕实验、Transwel 侵袭实验比较 4 组 HO-8910PM 细胞侵袭和转移能力;半定量 RT-PCR 结合 Western blot 法检测 4 组 HO-8910PM 细胞中尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)的表达水平。**结果** 4 组 HO-8910PM 细胞迁移和侵袭能力比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。随着 UTI 剂量增加,HO-8910PM 细胞迁移距离和穿膜细胞数均呈明显减少趋势( $P < 0.05$ );uPA mRNA 和蛋白表达水平呈明显降低趋势( $P < 0.05$ )。**结论** UTI 能够有效抑制人卵巢癌细胞 HO-8910PM 的侵袭和转移,且抑制作用存在剂量依赖性,其机制可能与 UTI 下调 uPA 的表达有关。

**[关键词]** 乌司他丁;卵巢肿瘤;转移;侵袭;尿激酶型纤溶酶原激活物

**[中图分类号]** R739

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2019)09-1480-04

### Effect of Ulinastatin on invasion and metastasis of HO-8910PM cells in human ovarian cancer\*

LI Yan<sup>1</sup>, LI Guifei<sup>2</sup>

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Chengdu Women and Children's Central Hospital, Chengdu, Sichuan 610031, China; 2. School of Medicine, Hunan Normal University, Changsha, Hunan 410006, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the inhibitory effect of Ulinastatin (UTI) on the invasion and metastasis in human ovarian carcinoma HO-8910PM cell line. **Methods** HO-8910PM cells were cultured and divided into 4 groups, the control group, the low-dose group, the medium-dose group and the high-dose group. The effect of UTI on HO-8910PM cells on invasion and metastasis were analyzed by Matrigel invasion assay. RT-PCR assay and Western blot were used to determine the changes of mRNA and protein level of uPA. **Results** The various indexes differences in 4 groups of HO-8910PM cells were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The migration distance and the number of transmembrane cells showed a decreasing tendency ( $P < 0.05$ ). The mRNA and protein expression levels of uPA was significantly down-regulated ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** UTI could inhibit the invasion and metastasis of the ovarian cancer cells. The inhibitory effect is dose-dependent. The mechanism may be related to the down-regulation of uPA by UTI.

**[Key words]** ulinastatin; ovarian neoplasms; metastasis; invasion; urokinase-type plasminogen activator

卵巢癌是发病率位居第三而死亡率最高的妇科肿瘤,由于其早期症状不明显,早期诊断方法不成熟,因而早期即可发生广泛转移,发现时超过 70% 的患者已属晚期,由于广泛的腹腔转移而无法手术根治<sup>[1]</sup>。肿瘤细胞的迁移、侵袭和对基质的降解是卵巢癌发生转移的三大步骤<sup>[2]</sup>。其中,在肿瘤细胞穿透基底膜并降解细胞外基质的这个关键步骤中,多种蛋白酶发挥着至关重要的作用,尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase-type plasminogen activator, uPA)就是其中之一<sup>[3]</sup>。

乌司他丁(ulinastatin, UTI)作为尿激酶抑制剂,是一种从人类尿液中提取纯化的糖蛋白,能有效抑制多种蛋白酶的活性,因而被广泛应用于弥散性血管内凝血、休克和胰腺炎等疾病的治疗<sup>[4]</sup>。UTI 还具有抗肿瘤的作用,已有研究证实其对乳腺癌、人口腔表皮样癌、结肠癌等多种肿瘤细胞具有明显的抑制迁移和侵袭的能力,且其机制与 UTI 抑制肿瘤细胞中 uPA 的表达有关。目前国内对于 UTI 在人卵巢癌治疗方面的研究鲜有报道,为了研究证实 UTI 是否对人卵巢癌细胞的迁移和侵袭有抑制作用及其机制是否与

uPA 有关,本实验探讨了 UTI 对人卵巢癌细胞迁移和侵袭能力的影响,以及对 uPA 表达水平的影响,为进一步研究 UTI 对人卵巢癌的临床辅助治疗提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 细胞及主要试剂** 人卵巢癌细胞系 HO-8910PM 购买于中科院上海细胞库;胎牛血清和 RPIM-1640 购自杭州四季青生物工程材料有限公司;0.25%的胰酶购于美国 GBICO 公司;Matrigel 购自美国 BD 公司;UTI 购于广东天普生化医药股份有限公司;AMV Reverse Transcriptase 购自美国 Promega 公司;DreamTaq™ Green PCR Master Mix 购自 Fermentas 公司;DNA Marker I 购自日本 TaKaRa 公司; $\beta$ -actin 单克隆抗体购自美国 Sigma 公司;Halt™ Protease Inhibitor Cocktail 蛋白酶抑制剂、M-PER® Mammalian Protein Extraction Reagent 和 uPA 抗体购自美国 Thermo 公司,HRP 偶联二抗购自美国 Millipore 公司;BCA Assay Reagent Kit、化学发光(ECL)试剂盒购自美国 Pierce Chemical 公司;其他常用试剂均为国产分析纯试剂。

**1.1.2 引物** 引物用 Primer Premier 5.0 软件设计并经 BLAST 比对以后委托北京华大公司合成。uPA 上游引物:5'-ACT CCA AAG GCAGCA ATG AA-3',下游引物为:5'-AGA GTC TTT TGG CCA CAC TG-3',产物长度 469 bp。GAPDH 上游引物为:5'-TAT AAA TTG AGC CCG CAG CC-3',下游引物为:5'-ACA TGT AAA CCA TGT AGT TGA GGT-3',产物长度 244 bp。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** HO-8910PM 细胞接种于含 10%胎牛血清的 RPIM-1640 细胞培养液中,37 °C 恒温、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养,每 2~3 天换液。实验所用的细胞均为处于对数生长期的细胞。

**1.2.2 实验分组及给药** 将处于对数生长期的 HO-8910PM 细胞分为对照组和 UTI 低、中、高剂量组,对照组加入 100  $\mu$ L 磷酸盐缓冲液(PBS),UTI 低、中、高剂量组分别加入终浓度为 400、800、1 600 U/mL UTI 进行处理,处理后培养 48 h 再进行后续实验。

**1.2.3 划痕实验** 细胞按照前述分组及各组处理方式处理 48 h 后经 0.25%胰酶消化,制成  $5 \times 10^5$  个/mL 的细胞悬液,向 6 孔板每孔中加入 2 mL 细胞后放置于 37 °C 含 5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度培养箱中过夜,次日取出后用 200  $\mu$ L 的黄色枪头于 6 孔板中划痕,用无血清的 RPIM-1640 培养液冲洗后,于显微镜下观察并拍照。培养 48 h 后,再次于显微镜下观察并拍照,用 Image J 软件来测量划痕区域的细胞迁移距离。

**1.2.4 Transwell 侵袭实验** Matrigel 先用冰预冷的 RPIM-1640 培养基稀释成为 2.5 mg/mL,按每孔 25  $\mu$ L 加入 24 孔板的 Transwell 小室上腔,置于 4 °C 冰箱过夜,使 Matrigel 聚合成胶。次日取对数生长期的对照组及各处理组细胞,经 0.25%胰酶消化后,离心并用 RPIM-1640 培养基调整细胞密度至  $2 \times 10^6$  个/mL。上室接种 100  $\mu$ L 不含血清的细胞悬液,下室加入 500  $\mu$ L 含 10%胎牛血清的 1640 完全培养基起趋化作用。每组设 3 个复孔,放置 37 °C 恒温、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的培养箱中培养 24 h 后,弃上室液体,擦净膜上未侵袭的细胞及 Matrigel,经 4%甲醛固定并用含 2%结晶紫的 2%乙醇染色,200 倍光学显微镜下选择滤膜上下左右中 5 个不同视野,计数每个视野侵袭细胞数。

**1.2.5 反转录 PCR(RT-PCR)检测细胞中 uPA mRNA 的表达** HO-8910PM 细胞按照前述分组及各组处理方式加药处理 48 h 后,按照 Trizol™ Reagent 说明书进行总 RNA 抽提,-20 °C 保存备用。1%琼脂糖凝胶(含溴化乙锭)100 V 电泳 15 min 后凝胶成像系统检测 RNA 质量,紫外分光光度计测定 RNA 浓度和纯度。根据 Promega 公司反转录试剂盒说明书反转录合成 cDNA,PCR 反应体系为 20  $\mu$ L,包括  $2 \times$  DreamTaq™ Green PCR Master Mix 10  $\mu$ L,cDNA 1.0  $\mu$ L,上游引物(10  $\mu$ mol/L)0.5  $\mu$ L,下游引物(10  $\mu$ mol/L)0.5  $\mu$ L,添加去离子水使总体积达到 20  $\mu$ L。反应条件:95 °C 预变性 10 min;95 °C 变性 30 s,58 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 60 s,32 个循环;72 °C 最终延伸 10 min。GAPDH 作为内参。取适量 PCR 产物在 1.5%琼脂糖凝胶中电泳,凝胶成像系统扫描拍照,Image J 软件分析并计算目的基因 uPA/GAPDH 的灰度比值。

**1.2.6 Western blot 检测细胞 uPA 的表达** HO-8910PM 细胞按照前述分组及各组处理方式加药处理 48 h 后,迅速吸去培养液,并用冰预冷的 PBS 洗 4 次,每孔加入 100  $\mu$ L 已加入 Halt™ Protease Inhibitor Cocktail 蛋白酶抑制剂的 M-PER® Mammalian Protein Extraction Reagent,冰上放置 30 min,间隔摇晃几次;用乙醇处理过的细胞刮子将裂解的细胞刮下来,转移至 1.5 mL 离心管。冰上超声裂解细胞 60 s,冰上放置 15 min;1 300 r/min、4 °C 离心 30 min,吸取上清至另一洁净离心管中,分装后保存于-80 °C。提取的蛋白采用 Pierce 公司的 BCA Protein Assay Reagent Kit 进行定量。蛋白变性后取 40  $\mu$ g 于 12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)上先 80 V 电泳 1 h,再 120 V 电泳 4 h,电泳结束后,用湿转法将蛋白质转移到以聚偏氟乙烯(PVDF)膜上;取下 PVDF 膜用丽春红 S 染色,观察转膜效率。用含 5%脱脂牛奶的-三乙醇胺缓冲盐水(TBST)室温封闭 2 h;加

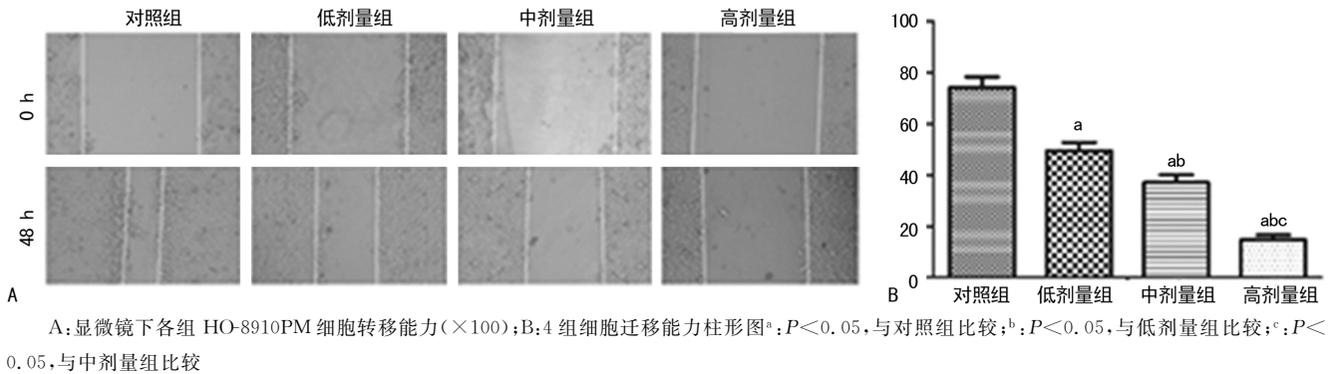


图 1 各组 HO-8910PM 细胞转移能力比较

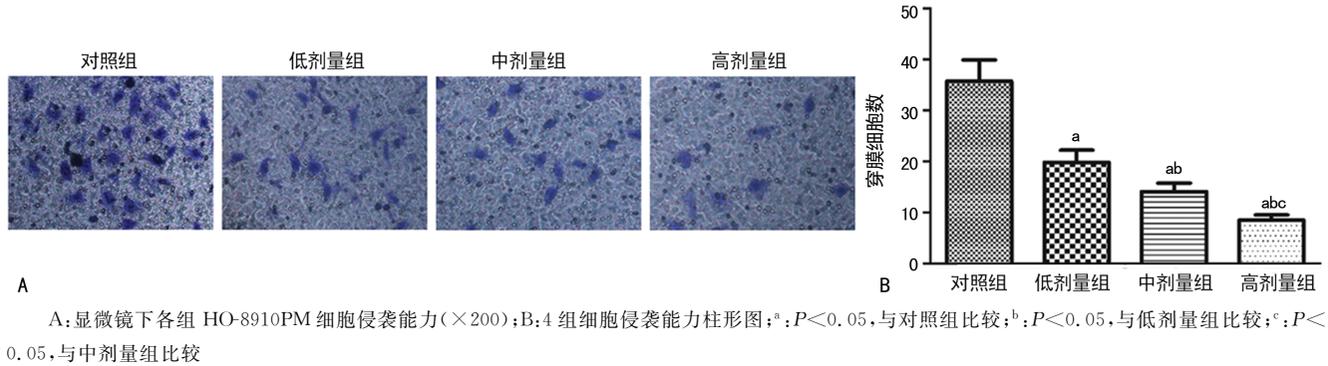


图 2 各组 HO-8910PM 细胞侵袭能力比较

入稀释的一抗,4℃冷室中轻摇过夜,次日 TBST 洗 3 次,每次 10 min;加入 TBST 稀释的二抗,室温孵育 2 h, TBST 洗 3 次,每次 10 min;增强型 ECL 试剂盒进行 ECL 检测,X 光片压片、显影、定影。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验;相关性采用 Spearman 相关分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

2.1 UTI 对人卵巢癌细胞 HO-8910PM 转移能力的影响 划痕实验结果显示:与对照组相比,随着 UTI 浓度增加,细胞迁移能力呈明显减弱趋势,各组间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 1。

2.2 UTI 对人卵巢癌细胞 HO-8910PM 侵袭能力的影响 HO-8910PM 细胞经不同浓度 UTI 处理后行 Transwell 实验,结果显示:细胞经 UTI 处理后,穿过人工基底膜的细胞数明显减少,侵袭能力受到明显抑制,且呈浓度依赖,各组间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 2。

2.3 UTI 对 uPA mRNA 表达水平的影响 RT-PCR 结果显示:随着 UTI 浓度的升高,uPA mRNA 的相对表达水平逐渐降低,各组间比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 3。

2.4 UTI 对 uPA 蛋白表达水平的影响 各处理组细胞 uPA 的蛋白表达水平较对照组明显降低,随着

UTI 浓度的升高,表达水平逐渐降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 4。

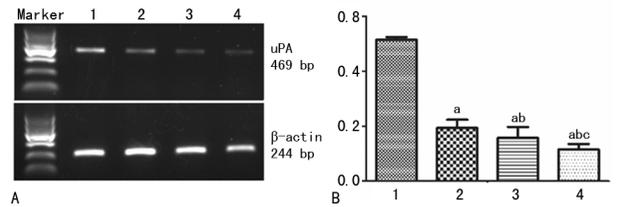


图 3 各组 HO-8910PM 细胞 uPA mRNA 表达水平比较

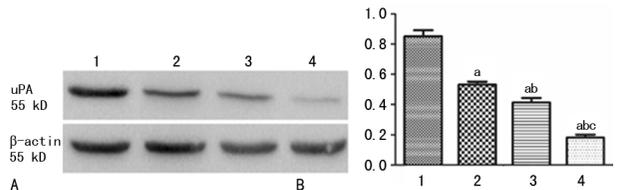


图 4 各组 HO-8910PM 细胞 uPA 蛋白表达水平比较

## 3 讨 论

卵巢癌之所以是死亡率最高的妇科肿瘤,其最主要的原因就是其转移和复发率高。目前,传统的根治

性手术联合辅助性化疗仍是临床上治疗卵巢癌的基本方法<sup>[5]</sup>。但由于高转移率及化疗的毒副反应,患者的生存率并没有提高。因此,探索卵巢癌侵袭转移的机制,从而有效地控制卵巢癌细胞转移,找到一种既能抑制卵巢癌细胞转移,又安全有效的药物,对改善卵巢癌患者的预后,提高其生存率具有重要的临床意义<sup>[6]</sup>。

近年来,uPA 系统在肿瘤转移中的作用成为科学家们研究的热点,已有大量实验证实在乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌、肺癌、口腔癌、结肠癌和前列腺癌等恶性肿瘤及其转移瘤中 uPA 的表达水平平均比正常组织和良性肿瘤细胞要高<sup>[7]</sup>。uPA 在卵巢癌的转移中也发挥着至关重要的作用,邹存华等<sup>[8]</sup>对卵巢癌 HO-8910PM 细胞的研究结果显示 uPA 所激活的纤溶系统在卵巢癌发生、发展过程中起重要作用。ZHANG 等<sup>[9]</sup>的研究结果发现,卵巢癌中 uPA 的阳性率和血清学浓度均明显高于卵巢良性肿瘤和正常卵巢组织,uPA 的表达和卵巢癌的病理分期和远处转移具有相关性。KONECNY 等<sup>[10]</sup>对卵巢癌的研究表明,uPA 的表达水平可以作为判断卵巢癌预后的独立因子,uPA 低表达患者的肿瘤无进展生存期和 5 年生存率高于高表达患者。本研究中检测到 HO-8910PM 细胞侵袭能力与细胞中 uPA mRNA 表达水平和 uPA 蛋白表达水平呈正相关,通过抑制细胞中 uPA mRNA 和 uPA 蛋白表达水平可以明显抑制细胞的侵袭转移能力,这进一步证实 uPA 在卵巢癌的侵袭转移中发挥着重要作用。

在深入探讨 uPA 对卵巢癌侵袭转移作用的同时,课题组也在思考能否通过抑制 uPA 表达从而达到抑制卵巢癌转移的目的。本实验中用到的 UTI 就是一种新型的 uPA 抑制剂。UTI 一种从人类尿液中分离纯化的尿胰蛋白酶抑制剂,能有效地抑制多种蛋白酶的活化,已被广泛应用于弥散性血管内凝血、休克和胰腺炎等炎症性疾病的治疗。UTI 还具有抗肿瘤的作用,已有研究证实其对乳腺癌、人口腔表皮样癌、结肠癌等多种肿瘤细胞具有明显的抑制迁移和侵袭的能力。目前国内外多个课题组认为其机制与 UTI 抑制肿瘤细胞中 uPA 的表达有关。杨超文等<sup>[11]</sup>对体外肝癌细胞的研究中发现,当 UTI 的浓度达到 600 U/mL 时,肝癌细胞 SK-HEP-1 细胞中 uPA 的 mRNA 和蛋白表达均减少,且随 UTI 浓度增加到 900 U/mL 时,uPA 可能即是 UTI 作用的直接靶点或其下游靶点,从而发挥抑制肝癌细胞迁移和转移的作用。本文作者曾对高转移性绒毛膜癌细胞体外研究也显示 uPA 的表达水平与绒毛膜癌细胞的体外侵袭转移密切相关,且 UTI 可以通过降低 uPA 的表达水

平从而有效抑制绒毛膜癌细胞的转移<sup>[12]</sup>。KOBA-YASHI 等<sup>[13]</sup>对卵巢癌的研究中发现 UTI 的 N-末端是 UTI 与肿瘤细胞结合位点,其 C-末端则是抑制肿瘤转移的部位。然而,UTI 抑制肿瘤细胞转移和侵袭的机制及 UTI 作用的靶点却仍不明确。鉴于国内对于 UTI 在人卵巢癌治疗方面的研究鲜有报道,本实验以高转移人卵巢癌细胞 HO-8910PM 为研究对象,以证实 UTI 是否对人卵巢癌细胞的侵袭转移有抑制作用及其机制是否与 uPA 有关。

本实验中,划痕实验结果显示 UTI 能够有效地抑制 HO-8910PM 细胞的转移,且与 UTI 的浓度相关;预铺 Matrigel 的 Transwell 小室充分模拟了天然基底膜结构,侵袭实验结果显示 UTI 能明显抑制 HO-8910PM 细胞的侵袭性,且抑制作用与 UTI 的浓度相关。为了进一步探讨其转移和侵袭的机制,本研究用 RT-PCR 和 Western blot 方法检测了 uPA 的表达情况,随着 UTI 浓度的逐渐增加,uPA 的 mRNA 和蛋白表达水平均逐渐降低,呈剂量依赖性,说明 UTI 抑制卵巢癌细胞侵袭转移可能是通过抑制细胞中 uPA 的 mRNA 和蛋白表达来实现的。

由于 UTI 来源于人体,抗原性小,对机体毒副反应小,不同于常规化疗药物,有开发为安全有效的抗肿瘤药物的潜力,UTI 有望通过下调卵巢癌细胞 uPA 的表达抑制卵巢癌的转移,减少常规化疗药物的用量,缓解化疗的毒副反应,改善预后。SONG 等<sup>[14]</sup>对肝癌细胞的研究已经表明抗肿瘤药物表柔比星联合 UTI 应用可以明显改善肝癌预后。而本研究应用 UTI 干预 HO-8910PM 细胞后,细胞中 uPA 的表达水平下降,且与 UTI 剂量负相关,同时其迁移和侵袭能力也呈下降趋势,由此推测其作用机制可能与 UTI 下调了与卵巢癌侵袭转移密切相关的 uPA 基因表达有关,为 UTI 用于卵巢癌辅助治疗用药提供了理论依据和可能性,但具体作用机制还需进一步研究。

## 参考文献

- [1] KUHN E, KURMAN R J, SHIH I M, et al. Ovarian cancer is an imported disease: fact or fiction[J]. *Curr Obstet Gynecol Rep*, 2012, 1(1): 1-9.
- [2] MIYAZAKI K, NAKAYAMA N, NAKAYAMA K, et al. Mechanisms of ovarian cancer metastasis: biochemical pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(9): 11705-11717.
- [3] BOTKJAER K A, DERYUGINA E I, DUPONT D M, et al. Targeting tumor cell invasion and dissemination in vivo by an aptamer that inhibits urokinase-type plasminogen activator through a novel multifunctional mechanism[J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 10(12): 1532-1543.
- [4] INOUE K I, TAKANO H. Urinary trypsin inhibitor as a therapeutic option for endotoxin-related(下转第 1488 页)

- lective novel peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- $\alpha$  antagonist induces apoptosis and inhibits proliferation of CLL cells in vitro and in vivo[J]. *Mol Med*, 2015, 21(1):410-419.
- [3] GRABACKA M, WIECZOREK J, MICHALCZYK-WETULA D, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) contributes to control of melanogenesis in B16 F10 melanoma cells[J]. *Arch Dermatol Res*, 2017, 309(3):141-157.
- [4] LI X Q, ZHOU J D, ZOU S T, et al. Enhancement of radiosensitivity in human esophageal carcinoma cells by fenofibrate and its potential mechanism[J]. *Tumori*, 2015, 101(1):123-130.
- [5] GOU Q, GONG X, JIN J H, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) are potential drug targets for cancer therapy [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(36):60704-60709.
- [6] WANG G, YE Y, YANG X, et al. Expression-based in silico screening of candidate therapeutic compounds for lung adenocarcinoma[J]. *PLoS One*, 2011, 6(1):e14573.
- [7] 王桂平, 张彦焘, 刘新艳, 等. 苯扎贝特协同顺铂抑制肺癌细胞生长和诱导凋亡[J]. *药学研究*, 2014, 33(11):621-625.
- [8] LAKSHMI S P, REDDY A T, SOKA B A, et al. PPAR agonists for the prevention and treatment of lung cancer [J]. *PPAR Res*, 2017(2017):1-8.
- [9] MURRAY J A, KHANIM F L, HAYDEN R E, et al. Combined bezafibrate and medroxyprogesterone acetate have efficacy without haematological toxicity in elderly and relapsed acute myeloid leukaemia (AML) [J]. *Br J Haematol*, 2010, 149(1):65-69.
- [10] WILK A, URBANSKA K, GRABACKA M, et al. Fenofibrate-induced nuclear translocation of FoxO3A triggers Bim-mediated apoptosis in glioblastoma cells in vitro[J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(14):2660-2671.
- [11] LI T, ZHANG Q, ZHANG J, et al. Fenofibrate induces apoptosis of triple-negative breast cancer cells via activation of NF- $\kappa$ B pathway[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(1):96-106.
- [12] YANG L, GUO H, LI Y, et al. Oleoylethanolamide exerts anti-inflammatory effects on LPS-induced THP-1 cells by enhancing PPAR $\alpha$  signaling and inhibiting the NF- $\kappa$ B and ERK1/2/AP-1/STAT3 pathways[J]. *Sci Rep*, 2016(6):34611.
- [13] DAVILA-GONZALEZ D, CHANG J C, BILLIAR T R. NO and COX2: dual targeting for aggressive cancers[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(52):13591-13593.
- [14] LIAN X, WANG G, ZHOU H, et al. Anticancer properties of fenofibrate: a repurposing use[J]. *J Cancer*, 2018, 9(9):1527-1537.

(收稿日期:2018-09-22 修回日期:2019-01-06)

(上接第 1483 页)

- inflammatory disorders[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2010, 19(4):513-520.
- [5] CORTEZ A J, TUDREJ P, KUJAWA K A, et al. Advances in ovarian cancer therapy[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2018, 81(1):17-38.
- [6] RABBANI S A, ATEEQ B, ARAKELIAN A, et al. An anti-urokinase plasminogen activator receptor antibody (ATN-658) blocks prostate cancer invasion, migration, growth, and experimental skeletal metastasis in vitro and in vivo[J]. *Neoplasia*, 2010, 12(10):778-788.
- [7] DASS K, AHMAD A, AZMI A S, et al. Evolving role of uPA/uPAR system in human cancers[J]. *Cancer Treat Rev*, 2008, 34(2):122-136.
- [8] 邹存华, 王宏, 宋冬冬, 等. P38MAPK 信号通路与 uPA 在卵巢癌细胞及组织中表达的相关性[J]. *中国癌症杂志*, 2015, 25(8):572-578.
- [9] ZHANG W, LING D, TAN J, et al. Expression of urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type-1 in ovarian cancer and its clinical significance [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(2):637-645.
- [10] KONECNY G, UNTCH M, PIHAN A, et al. Association of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor with disease progression and prognosis in ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(6):1743-1749.
- [11] 杨超文, 肖治宇, 褚忠华, 等. 胰蛋白酶抑制剂对人肝癌细胞 SK-HEP-1 迁移和侵袭的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2011, 28(11):1881-1883.
- [12] 李燕, 刘惠宁, 李贵妃, 等. 乌司他丁通过调节 uPA 表达对绒癌细胞体外侵袭能力的影响[J]. *现代妇产科进展*, 2010, 19(10):739-743.
- [13] KOBAYASHI H, SUZUKI M, HIRASHIMA Y, et al. The protease inhibitor bikunin, a novel anti-metastatic agent[J]. *Biol Chem*, 2003, 384(5):749-754.
- [14] SONG B, BIAN Q, SHAO C, et al. Ulinastatin reduces the resistance of liver cancer cells to epirubicin by inhibiting autophagy[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3):e0120694.

(收稿日期:2018-07-30 修回日期:2018-12-08)