

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.18.005

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210524.0949.002.html\(2021-05-24\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210524.0949.002.html(2021-05-24))

油酸激活 Src 基因诱导 Hela 细胞增殖、迁移和侵袭的研究*

秦虹^{1,2}, 张晓玉², 罗旋², 曾晗², 陈压西², 杨萍^{2Δ}

(1. 重庆医科大学附属第二医院肿瘤中心 401336; 2. 重庆医科大学脂糖代谢性疾病重庆市重点实验室脂质研究中心 400016)

[摘要] **目的** 探讨油酸是否能够通过激活 Src 基因, 从而诱导宫颈癌 Hela 细胞的增殖、迁移和侵袭。 **方法** 给予不同浓度的油酸(0、5、10 μmol/L) 处理人宫颈癌 Hela 细胞, 使用 CCK-8、平板克隆、EdU 及 Transwell 等方法分别检测不同浓度油酸负荷下 Hela 细胞增殖、迁移及侵袭能力的变化情况; Western blot 检测油酸处理前后 Src 和 p-Src 蛋白表达水平变化; 使用 Src 激酶特异性抑制剂 SU6656 处理细胞后, 观察 Hela 细胞增殖率及穿膜细胞数等指标变化。 **结果** 不同浓度油酸处理 Hela 细胞后, 其体外增殖、迁移和侵袭能力均明显增加($P < 0.05$), 且存在浓度依赖性。与 NC 组比较, 油酸组 p-Src 蛋白表达水平升高($P < 0.05$)。应用 Src 特异性抑制剂 SU6656 处理后, 油酸引起的 Hela 细胞的增殖、迁移及侵袭力的增强均受到抑制。 **结论** 油酸激活 Src 基因促进 Hela 细胞增殖、迁移和侵袭。

[关键词] 宫颈癌; Hela 细胞; 油酸; Src; SU6656**[中图分类号]** R737.3**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)18-3084-06

Study on oleic acid inducing Hela cell proliferation, migration and invasion by activating Src gene*

QIN Hong^{1,2}, ZHANG Xiaoyu², LUO Xuan², ZENG Han², CHEN Yaxi², YANG Ping^{2Δ}

(1. Oncology Center, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401336, China; 2. Centre for Lipid Research, Chongqing Key Laboratory of Lipid and Glucose Metabolism, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] **Objective** To investigate whether oleic acid can induce cervical cancer Hela cell proliferation, migration and invasion by activating Src gene. **Methods** Hela cells were treated with different concentrations of oleic acid (0, 5, 10 μmol/L). CCK-8, plate cloning, EdU and Transwell were respectively used to detect the ability of proliferation, migration and invasion of Hela cells with different oleic acid concentrations. Western blot was used to detect the Src and p-Src protein expression levels with oleic acid treatment. Then Src kinase-specific inhibitor SU6656 was used to treat Hela cells. CCK-8 and Transwell assay were conducted to observe the changes of proliferation rate and number of transmembrane cells in each group. **Results** After Hela cells were treated with oleic acid at different concentrations, the proliferation, migration and invasion rate in vitro increased significantly ($P < 0.05$), and there was a concentration dependence. Compared with the control group, the expression level of p-src protein was increased in the oleic acid treatment group ($P < 0.05$). At SU6656 pretreatment, the proliferation, migration and invasion of Hela cells induced by oleic acid were inhibited. **Conclusion** Oleic acid activates the Src gene to promote the proliferation, migration and invasion of Hela cells.

[Key words] cervical cancer; hela cell; oleic acid; Src; SU6656

宫颈癌是妇科最常见的恶性肿瘤之一, 呈现年轻化的趋势, 极大地危害了女性生命健康。宫颈癌的发生、发展受多因素、多通路的调控。近年来研究表明, 肥胖可能增加宫颈癌的潜在发病率^[1]。膳食中脂肪摄入增加是导致肥胖状态的重要因素之一, 且膳食脂肪可能是解释肥胖与宫颈癌发生、发展关系的潜在因

素之一^[2-3]。

目前, 以“地中海食物”油酸为代表的单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acids, MUFA)作为重要的抗肿瘤免疫营养物质已引起广泛关注^[4-5]。研究表明, MUFA 不仅能通过影响肿瘤细胞蛋白质及 DNA 合成、破坏肿瘤细胞生物膜结构, 还能诱导肿瘤细胞

* 基金项目: 重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX0205); 重庆市渝中区基础研究与前沿探索项目(20190120)。 作者简介:

秦虹(1988—), 主治医师, 硕士, 主要从事肿瘤内科研究。 Δ 通信作者, E-mail: 420577305@qq.com。

自噬及凋亡等机制发挥抗癌作用^[6]。但近年来也报道了一些相反证据, MUFA, 特别是油酸, 可以促进胃癌和乳腺癌细胞的增殖和迁移发挥促癌作用^[7]。同时, 病例对照研究结果表明, MUFA 可能会增加患胰腺腺癌的风险^[8], 提示油酸有促癌作用。影响宫颈癌预后最重要的因素是原位侵袭和远处转移, 因此, 抑制肿瘤的侵袭和转移是宫颈癌防治的关键。Src 基因是在人类中较早发现的有内在酪氨酸激酶活性的原癌基因。Src 蛋白激酶作为一种不需要受体和膜相关信号转导的酶类, 对肿瘤细胞增殖、迁移、侵袭和细胞分化均有调控作用, 其异常活化及通路紊乱与肿瘤的高转移性和预后不良关系密切^[9]。目前, Src 蛋白激酶小分子抑制剂的抗癌作用研究已经进入了大量的临床试验阶段。本课题组前期研究结果发现, 高油酸饮食喂养(含 45% 的橄榄油)能够促进裸鼠 Hela 细胞皮下成瘤并增加肿瘤转移率, 并进一步应用生物信息学分析了可能参与该过程的一些核心基因及通路^[10]。本研究旨在探讨高油酸饮食对 Hela 细胞增殖、迁移和侵袭等恶性表型的影响, 以及在油酸刺激下 Src 通路的激活情况, 为研究宫颈癌发生、发展的机制提供一定的依据, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

人宫颈癌细胞株 Hela, 经过鉴定并由脂糖代谢性疾病重庆市重点实验室保存。

1.1.2 试剂

胎牛血清购于阿根廷 NTC 公司; 高糖 DMEM 培养基购于美国 Hyclone 公司; 油酸购于美国 Sigma 公司; 牛血清清蛋白购于中国 BBI 生命科学公司; CCK-8 试剂购于日本同仁公司; EdU 细胞增殖试剂盒购于广州锐博公司; 结晶紫染料购于美国 Genview 公司; 基质胶购于美国 B&D 公司; 兔抗人 Src 和 p-Src 抗体均购于美国 CST 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

将含有 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素的高糖 DMEM 作为生长培养基, 于含 5% CO₂、37 °C 饱和湿度条件下常规培养, 每 2 天换液, 取对数生长期细胞进行实验。细胞实验前 12 h 将生长培养基更换为含有 0.2% 牛血清清蛋白的培养基。

1.2.2 油酸和 Src 激酶抑制剂 SU6656 配制

称取油酸钠(相对分子质量为 304.45)粉末 50 mg 于 1.5 mL EP 管中, 随后加入 1 080 μL 0.1 mmol/L NaOH 溶液, 置于 90 °C 以上水浴锅中加热溶解其间需不断摇晃, 5~10 min 待完全溶解后将溶液移入 15 mL 离心管中, 并向其中加入 5% 牛血清清蛋白使最终体积为 10.8 mL, 此为油酸储存液(终浓度为 15 mmol/L), 使用时用 0.2% 牛血清清蛋白稀释, 获得 0.5、10 μmol/L 的工作液。SU6656 配制时

溶于二甲基亚砜(DMSO), 将其配制成浓度为 1 mmol/L 的溶液, 使用时用 0.2% 牛血清清蛋白稀释, 获得 0.5 μmol/L 的工作液。机制探讨实验使用油酸及 SU6656 处理, 共分为 4 组, 其中 NC 组不使用油酸及 SU6656 处理, 油酸组用 10 μmol/L 油酸处理, SU6656 组用 0.5 μmol/L SU6656 处理, 油酸+SU6656 组使用 10 μmol/L 油酸联合 0.5 μmol/L SU6656 处理。

1.2.3 CCK-8 实验

将对数生长期 Hela 细胞消化、收集、制备单细胞悬液, 5 000 个/孔的密度接种到 96 孔板中, 每组设 5 个复孔。CCK-8 实验于接种后 6、24、48 和 72 h 时间点进行检测。细胞贴壁后换成含有不同浓度油酸(0、5、10 μmol/L)的工作液处理, 其中 NC 组不使用油酸处理, 油酸组使用 5、10 μmol/L 油酸处理。检测时每孔添加 CCK-8 液 10 μL 并于 37 °C 培养箱继续孵育 2 h。

1.2.4 EdU 细胞增殖实验

将对数生长期 Hela 细胞以 5 000 个/孔的密度接种到 96 孔板中, 每组设 5 个复孔。EdU 实验时, 细胞于 96 孔板孵育 24 h 后加入 EdU 培养基(EdU 浓度为 50 μmol/L)孵育, 然后使用多聚甲醛固定, 甘氨酸中和后用渗透剂[含 0.5% Triton X-100 的磷酸盐缓冲液(PBS)]于摇床孵育、清洗 2 次。随后加入 1×Apollo 染色反应液染色, 依次用 PBS、甲醇再清洗。后用试剂盒中 Hoechst33342 反应液进行细胞核染色。最后荧光显微镜计数并分析。

1.2.5 平板克隆集落生成实验

对数期 Hela 细胞以每孔 5 000 个种于 6 孔板, 用 2 mL 完全培养基培养, 5 d 后予以油酸(10 μmol/L)处理, 10 d 后于显微镜下观察集落形态, 使用 4% 多聚甲醛固定细胞, 用 0.1% 结晶紫染色, 观察集落生长情况。

1.2.6 Transwell 迁移实验

取对数生长期细胞, PBS 洗涤 2 次, 用含不同浓度油酸的培养基调整细胞密度为 2×10⁵/mL, 将 100 μL 细胞悬液加入 8 μm 的 Transwell 小室上室内, 下室加入 600 μL 含 10% 胎牛血清的完全培养基, 孵箱常规培养 24 h 后, 取出 Transwell 小室, PBS 清洗后, 用 4% 多聚甲醛室温固定 30 min, 然后于 0.1% 结晶紫中染色 30 min, PBS 清洗 2 次, 以棉签小心擦除滤膜内面的细胞, 用倒置显微镜在 200 倍进行拍照, 用 ImageJ 软件计算穿膜细胞数。

1.2.7 Transwell 侵袭实验

将 Matrigel 用无血清高糖培养基按 1:3 的比例稀释, 取 40 μL Matrigel 于 Transwell 小室的上室中, 均匀铺满小室底部的聚碳酸酯膜上, 并置于 37 °C 培养箱中孵育 1 h 待胶凝固。Transwell 小室上室内加入细胞悬液 100 μL(40 000 个/孔), 下室加入 600 μL 完全培养基, 将 24 孔板置于孵箱培养 72 h 后, 取出 Transwell 小室, PBS 清洗, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 然后用 0.1% 结晶紫染色 30 min, PBS 清洗 2 次, 以棉签

小心擦除滤膜内面的细胞,用倒置显微镜在 200 倍进行拍照,用 ImageJ 软件计算穿膜细胞数。

1.2.8 Western blot 实验

用 RIPA 分别提取 NC 组和油酸处理组 (10 $\mu\text{mol/L}$ 处理 48 h) 细胞的总蛋白,使用 BCA 试剂盒检测各种蛋白浓度后,确定上样量。于 8% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 进行等量总蛋白电泳,电转移于聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜后,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,3% 牛血清清蛋白封闭 1 h,随后分别加入 1:1 000 稀释的 Src 和 p-Src 一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育过夜。次日用 TBS-T 清洗 3 次,每次 15 min,接着加入 1:8 000 稀释的兔抗二抗,室温摇床中孵育 1 h,TBS-T 清洗 3 次,每次 15 min,随后用电化学发光 (ECL) 方法检测 p-Src 蛋白表达情况,用 ImageJ 软件定量分析。

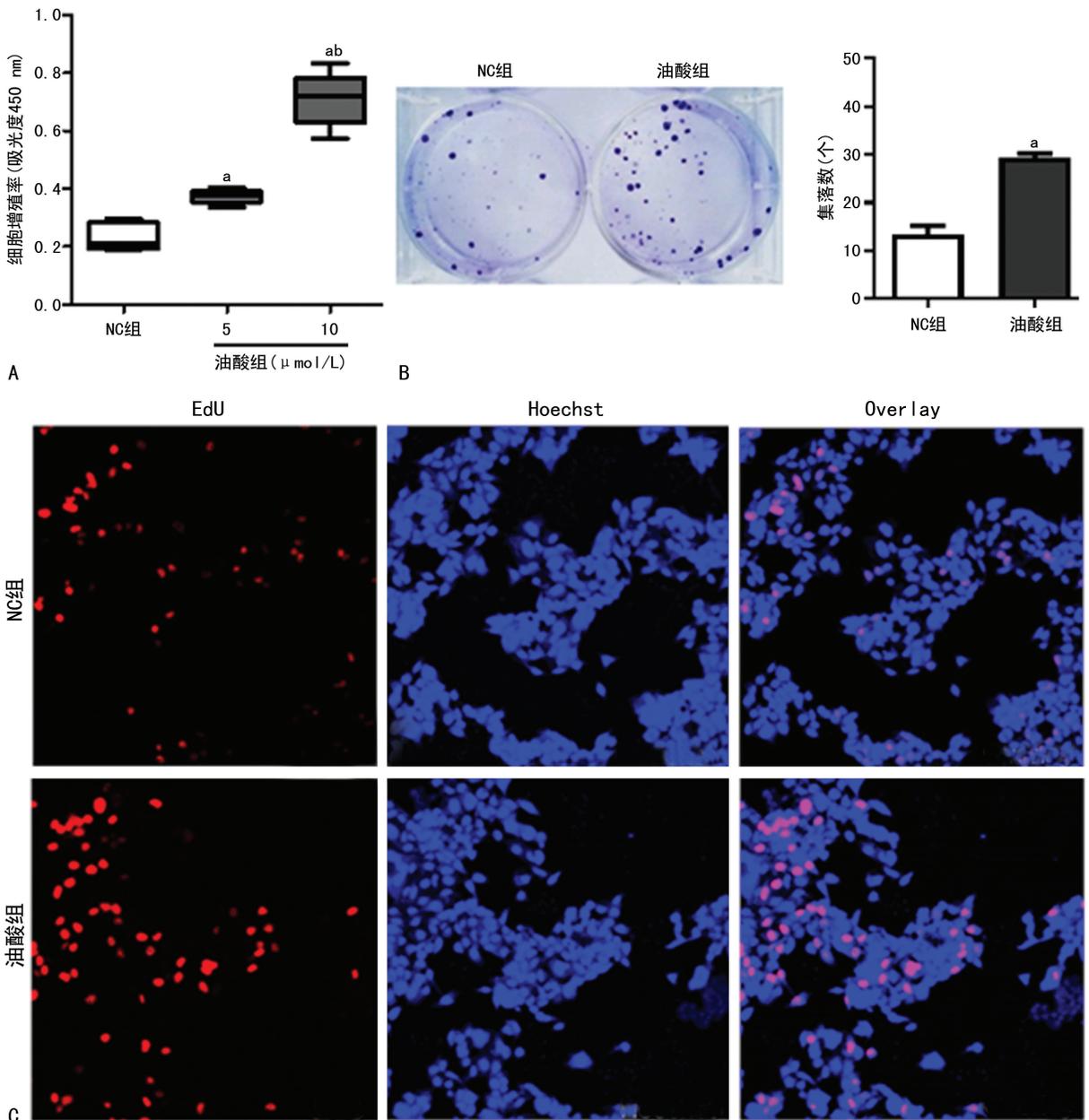
1.3 统计学处理

采用 Graphpad prism5.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA),组间两两比较采用 Turkey's 多重比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 油酸促进 Hela 细胞的增殖

CCK-8 实验显示:与 NC 组比较,油酸组细胞增殖率增高,且 10 $\mu\text{mol/L}$ 油酸组增殖率明显高于 5 $\mu\text{mol/L}$ 组 ($P<0.05$)。平板克隆实验显示:与 NC 组比较,油酸组 Hela 细胞集落形成能力明显增加 ($P<0.05$),且 Hela 细胞形成的单个集落更大。EdU 细胞增殖实验显示:油酸组 EdU 细胞阳性率较 NC 组升高 [(37 \pm 1)% vs. (29 \pm 1)% , $P<0.05$],见图 1。

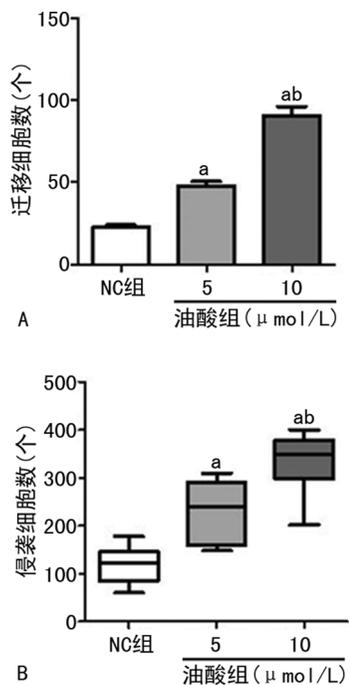


A: CCK-8 实验; B: 平板克隆实验; C: Edu 细胞增殖实验; ^a: $P<0.05$, 与 NC 组比较; ^b: $P<0.05$, 与 5 $\mu\text{mol/L}$ 油酸组比较。

图 1 油酸促进宫颈癌 Hela 细胞增殖的实验结果

2.2 油酸促进 Hela 细胞的迁移和侵袭

Transwell 迁移实验和侵袭实验显示,与 NC 组比较,油酸组迁移和侵袭细胞数均明显增多,且 10 $\mu\text{mol/L}$ 油酸组多于 5 $\mu\text{mol/L}$ 油酸组($P < 0.05$),见图 2。



A: 迁移实验; B: 侵袭实验; ^a: $P < 0.05$, 与 NC 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 5 $\mu\text{mol/L}$ 油酸组比较。

图 2 Transwell 小室实验

2.3 油酸能够刺激 Hela 细胞原癌基因 Src 激活

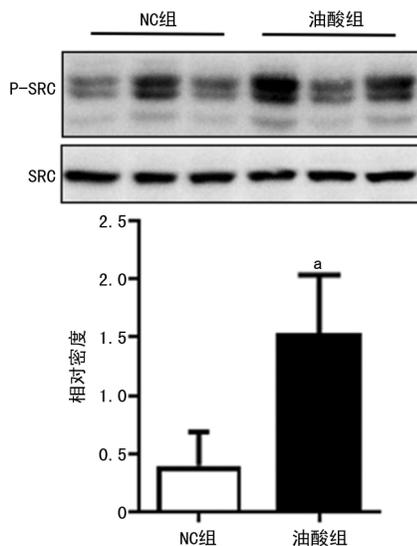
与 NC 组比较,油酸组 p-Src 蛋白表达水平明显增高($P < 0.05$),见图 3。

2.4 SU6656 能抑制油酸对 Hela 细胞的促增殖作用

与油酸组比较,NC 组、SU6656 组和油酸 + SU6656 组增殖率降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 NC 组比较,SU6656 组与油酸 + SU6656 组增殖率升高,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 4。

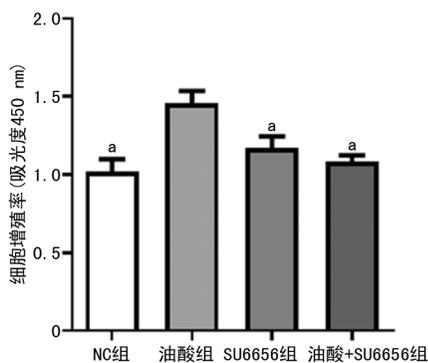
2.5 SU6656 能抑制油酸对 Hela 细胞的促迁移及侵袭作用

NC 组、油酸组、SU6656 组和油酸 + SU6656 组迁移细胞数分别为 (11.2 \pm 5.5)、(28.5 \pm 14.8)、(13.1 \pm 7.0)、(13.3 \pm 10.7) 个,油酸组多于另外 3 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。NC 组、油酸组、SU6656 组和油酸 + SU6656 组侵袭细胞数分别为 (78.4 \pm 34.0)、(275.5 \pm 102.4)、(67.2 \pm 24.0)、(69.6 \pm 27.4) 个,油酸组多于另外 3 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 5、6。



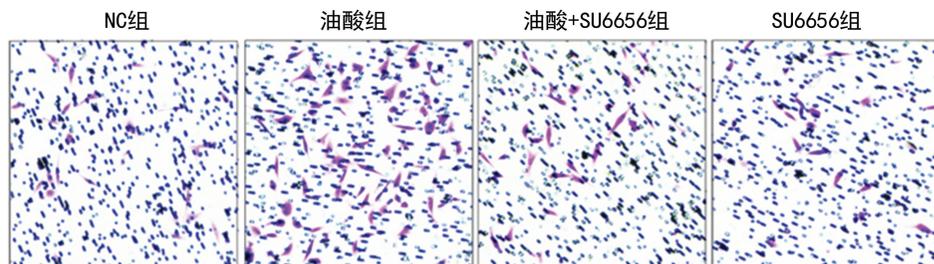
^a: $P < 0.05$, 与 NC 组比较。

图 3 油酸刺激 Hela 细胞原癌基因 Src 激活



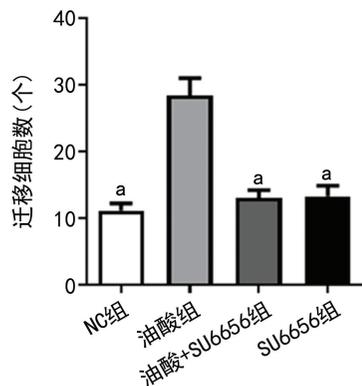
^a: $P < 0.05$, 与油酸组比较。

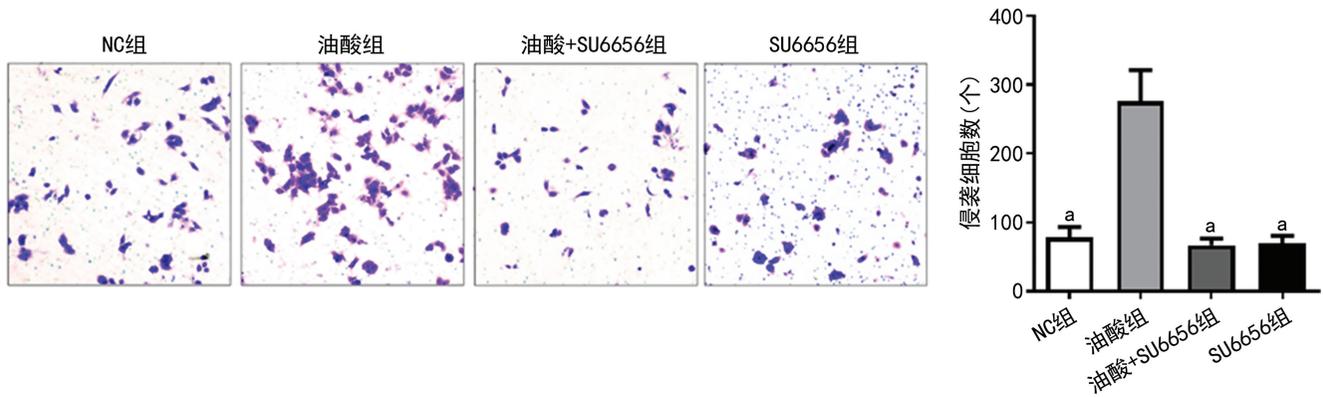
图 4 SU6656 逆转油酸对 Hela 促增殖作用



^a: $P < 0.05$, 与油酸组比较。

图 5 SU6656 逆转油酸对 Hela 促迁移作用





^a: $P < 0.05$, 与油酸组比较。

图 6 SU6656 逆转油酸对 HeLa 促侵袭作用

3 讨 论

宫颈癌发病率呈逐年上升趋势,虽然包括手术、放疗、化疗在内的宫颈癌治疗技术不断改进,但晚期患者 5 年生存率仍低于 50%^[11]。宫颈癌的预后与癌细胞的侵袭和转移密切相关,侵袭和转移是造成其死亡最重要的因素。但对于晚期和转移的宫颈癌,治疗效果不佳,因此,研究宫颈癌预防与治疗方向也十分必要。

在癌细胞中,脂肪酸主要参与细胞膜的形成,细胞能量储存和信号分子生成及转导。此外,脂肪酸通过调节细胞转化和肿瘤发生的信号通路来影响癌症的发展。油酸在橄榄油中含量高达 80%,富含油酸的橄榄油被认为是传统地中海饮食的关键营养成分,对心血管疾病的发生、发展产生保护作用。另外,流行病学研究表明橄榄油可减少乳腺癌和结肠癌发病率,且油酸与肝癌发生风险呈负相关^[12]。但也有油酸促进癌症发生的证据,如油酸可增加葡萄糖的利用以促进胶质母细胞的增殖,油酸与结肠腺瘤的发生呈正相关。硬脂酰辅酶 a 去饱和酶 1 (SCD1) 可将饱和脂肪酸转化为单不饱和脂肪酸,且 SCD1 已明确促进癌细胞增殖、迁移、转移等过程,所以使得油酸对癌症的影响尚存在争议,而目前针对油酸对宫颈癌的研究较少。

Src 激酶是原癌基因 c-Src 的主要产物,为非受体酪氨酸蛋白激酶,目前发现的家族成员有 11 个,Src 是目前研究最多的成员之一^[13]。Src 由 SH4 结构域、特定片段、SH3 结构域、SH2 结构域、连接段、SH1 结构域(蛋白酪氨酸激酶结构域)和羧基端调节尾端组成。Src 在细胞增殖、分化、运动和定位等细胞进程中都发挥重要作用。研究表明,Src 通路激活参与了结肠癌、前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、肺癌、胰腺等恶性肿瘤的进展^[14]。Src 激酶可参与多个信号通路,Src 通路活化将激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)途径或与其他信号通路之间的联系,对癌细胞的增殖、黏附及侵袭恶性表型有调控作用,其高表达或表达紊乱与某些肿瘤的高转移性和预后不良密切相关。有研究报道

在结肠癌中,肿瘤组织与癌旁组织比较,结肠癌组织的 Src 失调主要涉及蛋白质过表达和通路过度激活^[15]。在乳腺癌进展过程中,Src 激活是表皮生长因子受体(EGFR)信号下游的关键事件,刺激周围组织的迁移和侵袭。实验研究证明抑制 Src 激酶的活性或降低其表达可抑制多种癌细胞的增殖、迁移和侵袭,同时对肿瘤细胞耐药发挥积极作用。事实上,抑制 Src 激酶阻碍了一些肿瘤诱导表型的开关,包括刺激癌症相关成纤维细胞(CAFs)、血管生成和免疫浸润^[15]。PP2 为 Src 激酶抑制剂之一,其可于体外实验抑制膀胱癌细胞的迁移、侵袭等能力,且有浓度依赖性^[16]。另外,有研究证明 Src 通路激活降低了卵巢癌细胞对化疗药物的敏感性,同时这种抗性可以通过药理学抑制 Src 来逆转^[17]。目前,全国多中心已开始进行大量药物临床试验来评估实体瘤中的小分子 Src 家族抑制剂的抗癌作用^[18]。SU6656 是一种小分子吡啶酮,可特异性抑制 Src 激酶。由于其对 Src 的高度特异性,SU6656 已成为 Src 相关信号转导研究的重要工具。YANG 等^[19]研究发现,在胃癌中,Src 激酶活性与迁移、侵袭相关蛋白[如血管内皮生长因子(VEGF)及基质金属蛋白酶(MMP)家族蛋白]活性有正相关性,用 SU6656 干预可实现体外逆转胃癌细胞的恶性表型。

迄今为止,大多数证据表明 Src 在侵袭性表型的维持中起主导作用,而不是在细胞周期进程中起主导作用。有研究提示油酸可通过 ERK1/2 的磷酸化激活并形成 AP-1-DNA 复合物促进乳腺癌细胞的增殖,而 ERK1/2 的激活和 AP-1-DNA 复合物的形成依赖于 Src 家族激酶的活性。目前关于 Src 及 SU6656 对宫颈癌的作用研究报道较少。因此,本研究通过 Src 激酶抑制剂 SU6656 干预 HeLa 细胞,检测其侵袭和迁移能力的变化,以期寻找抗肿瘤治疗的新靶点提供理论依据。

本研究结果显示,油酸对 HeLa 细胞的增殖、迁移、侵袭能力有促进作用,且随浓度的增加效果越明显。通过蛋白水平检测,油酸可于体外刺激 Src 原癌基因表达,促进该通路激活。运用 Src 特异性抑制剂

SU6656 后,油酸对 HeLa 细胞的促癌作用逆转。综上所述,Src 激酶抑制剂在一定浓度油酸刺激下对 HeLa 细胞的增殖、迁移和侵袭能力有抑制作用,但 SU6656 抑制肿瘤侵袭和迁移能力的机制尚不清楚。因此,进一步探讨 SU6656 抑癌的分子机制将会对宫颈癌防治提供一定理论依据。

参考文献

- [1] GELSOMINO L, NAIMO G D, CATALANO S, et al. The emerging role of adiponectin in female malignancies[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(9):2127.
- [2] KUMAR R V, BHASKER S. Obesity in patients with carcinoma cervix increases the risk of adverse events[J]. *Rep Pract Oncol Radiother*, 2020, 25(2):212-216.
- [3] VENKATAS J, SINGH M. Cervical cancer; a meta-analysis, therapy and future of nanomedicine[J]. *Ecancermedalscience*, 2020, 14:1111.
- [4] ANTOGNELLI C, FROSINI R, SANTOLLA M F, et al. Oleuropein-induced apoptosis is mediated by mitochondrial glyoxalase 2 in NSCLC A549 cells; a mechanistic inside and a possible novel nonenzymatic role for an ancient enzyme [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 8576961.
- [5] ROMANI A, IERI F, URCIUOLI S, et al. Health effects of phenolic compounds found in extra-virgin olive oil, by-products, and leaf of *Olea Europaea* L [J]. *Nutrients*, 2019, 11(8):1776.
- [6] KHAN A A, ALANAZI A M, JABEEN M, et al. Biophysical interactions of novel oleic acid conjugate and its anticancer potential in HeLa cells[J]. *J Fluoresc*, 2015, 25(3):519-525.
- [7] HE P, GELISSEN I C, AMMIT A J. Regulation of ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) expression; cholesterol-dependent and -independent signaling pathways with relevance to inflammatory lung disease[J]. *Respir Res*, 2020, 21(1):250.
- [8] WANG J, ZHANG Y, ZHAO L. Omega-3 PUFA intake and the risk of digestive system cancers; a meta-analysis of observational studies [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(19): e20119.
- [9] ZHANG X, YANG P, LUO X, et al. High olive oil diets enhance cervical tumour growth in mice; transcriptome analysis for potential candidate genes and pathways[J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1):76.
- [10] ZHANG X, HOU G, LIU A, et al. Matrine inhibits the development and progression of ovarian cancer by repressing cancer associated phosphorylation signaling pathways [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(10):770.
- [11] DOGAN N U, DOGAN S, FAVERO G, et al. The basics of sentinel lymph node biopsy: anatomical and pathophysiological considerations and clinical aspects [J]. *J Oncol*, 2019, 2019: 3415630.
- [12] YANG W, SUI J, MA Y, et al. High dietary intake of vegetable or polyunsaturated fats is associated with reduced risk of hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(12):2775-2783.
- [13] CANER A, ASIK E, OZPOLAT B. SRC signaling in cancer and tumor microenvironment[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1270:57-71.
- [14] SIMATOU A, SIMATOS G, GOULIELMAKI M, et al. Historical retrospective of the SRC oncogene and new perspectives (Review) [J]. *Mol Clin Oncol*, 2020, 13(4):21.
- [15] MARTELLUCCI S, CLEMENTI L, SABETTA S, et al. Src family kinases as therapeutic targets in advanced solid tumors; what we have learned so far [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(6):1448.
- [16] KONG D, CHEN F, SIMA N I. Inhibition of focal adhesion kinase induces apoptosis in bladder cancer cells via Src and the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(5):1725-1731.
- [17] QIU Y, LIU P, MA X, et al. TRIM50 acts as a novel Src suppressor and inhibits ovarian cancer progression[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(9):1412-1420.
- [18] INDOVINA P, FORTE IM, PENTIMALLI F, et al. Targeting SRC family kinases in mesothelioma; time to upgrade [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(7):1866.
- [19] YANG Y, BAI Z G, YIN J, et al. Role of c-Src activity in the regulation of gastric cancer cell migration[J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(1):45-49.