

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.12.004

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20220105.1038.002.html\(2022-01-06\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20220105.1038.002.html(2022-01-06))LXR 激动剂 TO901317 抑制 N2a/APP695swe
细胞内 A β 生成的机制研究*黄杰¹, 张雄², 邓煜¹, 陈非¹, 罗英茂¹, 田茗源^{3△}

(1. 重庆市精神卫生中心老年科 400036; 2. 重庆医科大学基础医学院 400016;

3. 重庆医科大学附属第二医院内分泌科 400010)

[摘要] **目的** 观察肝脏 X 受体(LXR)激动剂 TO901317 对 N2a/APP695swe 细胞内 β -淀粉样蛋白 42 (A β 42)生成的影响,并探索其潜在机制。**方法** 体外培养 N2a/APP695swe 细胞,并用不同浓度的 TO901317 (5、10 和 20 μ mol/L)作用于细胞,采用 ELISA 检测细胞上清液中生成的 A β 42 水平变化;实时荧光定量 PCR (RT-PCR)和 Western blot 分别检测 N2a/APP695swe 细胞内淀粉样前体蛋白(APP)、 β -分泌酶(BACE1)和小凹蛋白-1(caveolin-1)mRNA 和蛋白水平的表达。**结果** ELISA 结果显示,TO901317 明显降低了细胞上清液中生成的 A β 42 水平($P<0.01$),且呈浓度依赖性。RT-PCR 和 Western blot 结果显示,TO901317 明显抑制了 APP 和 BACE1 mRNA 及蛋白水平表达($P<0.01$),促进了 caveolin-1 mRNA 和蛋白水平表达($P<0.01$)。**结论** TO901317 能明显抑制 N2a/APP695swe 细胞内 A β 42 的生成,其机制可能与 TO901317 促进 caveolin-1 的表达,抑制 APP 和 BACE1 的表达有关。

[关键词] 阿尔茨海默病;肝脏 X 受体;TO901317; β 淀粉样蛋白;小凹蛋白-1;神经瘤母细胞**[中图分类号]** R749.16 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)12-1999-06Mechanism of inhibition of A β production by LXR agonist
TO901317 in N2a/APP695swe cells*HUANG Jie¹, ZHANG Xiong², DENG Yu¹, CHEN Fei¹, LUO Yingmao¹, TIAN Mingyuan^{3△}

(1. Department of Geratology, Chongqing Mental Health Center, Chongqing 400036, China;

2. School of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;

3. Department of Endocrinology, The Second Affiliated Hospital
of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of liver X receptor (LXR) agonist TO901317 on the production of β -amyloid 42 (A β 42) in N2a/APP695swe cells, and to explore its potential mechanism. **Methods** N2a/APP695swe cells were cultured in vitro and treated with different concentrations (5, 10, and 20 μ mol/L) of TO901317. ELISA was used to detect the level of A β 42 in the cell supernatant. The mRNA and protein levels of amyloid precursor protein (APP), β -secretase (BACE1) and caveolin-1 in the N2a/APP695swe cells were detected by real-time fluorescent quantitative PCR (RT-PCR) and Western blot, respectively. **Results** ELISA results showed that TO901317 significantly decreased the level of A β 42 in the cell supernatant ($P<0.01$), and it was in a concentration-dependent manner. RT-PCR and Western blot results showed that TO901317 significantly inhibited the expression of APP and BACE1 mRNA and protein ($P<0.01$), while promoted the expression of caveolin-1 mRNA and protein ($P<0.01$). **Conclusion** TO901317 can significantly inhibit the production of A β 42 in N2a/APP695swe cells, and its mechanism may be related to the fact that TO901317 promotes the expression of caveolin-1 and inhibits the expression of APP and BACE1.

[Key words] Alzheimer's disease; liver X receptor; TO901317; amyloid β -protein; caveolin-1; neuroblastoma cell lines

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81801389);重庆市自然科学基金项目(Cstc2019jcyj-msxmX0673);重庆医科大学附属第二医院宽仁英才项目(kryc-yq-2214)。 作者简介:黄杰(1988—),主治医师,学士,主要从事老年性痴呆的发病机制及防治研究。 △ 通信作者, E-mail: mingyuant@163.com。

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最常见的神经退行性变性疾病,是痴呆的最主要的类型,其临床表现为进行性的认知功能障碍和记忆力损伤,而病理变化则是以细胞外 β 淀粉样蛋白(A β)增多并沉积形成老年斑、细胞内 Tau 蛋白过度磷酸化形成神经原纤维缠结(NFTs)和神经元丢失为主。其中,A β 的产生及沉积形成老年斑是 AD 发生的关键^[1]。在 AD 患者的脑内,A β 生成的增多通常是由淀粉样前体蛋白(APP)依次经 β -分泌酶(BACE1)和 γ -分泌酶裂解导致。BACE1 是 A β 生成的关键酶,主要位于细胞膜上胆固醇富集区,如脂筏(lipid raft)。而脂筏是质膜上富含胆固醇和神经鞘脂的动态微结构区域,其上分布着大量的膜蛋白受体,参与了信号转导^[2]、物质转运等过程^[3],也与神经突触可塑性有着密切的关系^[4],其标志蛋白之一是小凹蛋白-1(caveolin-1)。研究表明,细胞内胆固醇水平可调节 APP 的加工,增强 BACE1 活性,促进 A β 生成,因此,抑制胆固醇合成和降低细胞内胆固醇水平将改变脂筏的构成,进而减少 A β 的生成^[5]。

脑是富含胆固醇的器官,神经元中过多的胆固醇不能直接排到血液中,而是靠三磷酸腺苷结合盒转运子 A1(ATP-binding cassette transporter A1,ABCA1)胆固醇跨膜转运体系来促进胆固醇的外排,减少其对神经元产生的毒副作用。ABCA1 跨膜转运体系是以 ABCA1 为核心,以贫脂的载脂蛋白[如载脂蛋白 A1(apoA1)、高密度脂蛋白(HDL)]为受体,并主要以肝脏 X 受体(liver X receptor, LXR)和视黄醇类 X 受体(retinoic X receptor, RXR)的联合调控介导细胞内游离胆固醇和磷脂偶联后向外转运,进而降低细胞内胆固醇水平。一系列报道都显示,ABCA1 跨膜胆固醇转运体系在 A β 的沉积及清除中发挥了重要作用^[6-7],这为开发防治 AD 的药物提供了新靶点^[8]。研究证实,LXR 受体可防止记忆衰退,延缓 AD 的发展,但机制尚不清楚^[9-10]。因此,本实验采用 LXR 激动剂 TO901317 处理稳定表达 APP 的 N2a/APP695swe 细胞,检测 TO901317 对细胞内 β 淀粉样蛋白 42(A β 42)的影响,以及脂筏标记蛋白 caveolin-1、APP 和 BACE1 在 mRNA 和蛋白水平的表达情况,为 AD 的防治提供新的实验依据,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验细胞

小鼠来源的神经瘤母细胞(N2a 细胞)由厦门大学许华曦教授提供,分为两种类型:野生型细胞(N2a/wt 细胞)、稳定转染 Swedish 家族型突变的人 APP695 细胞(N2a/APP695swe 细胞)。

1.1.2 主要试剂

DMEM 高糖培养基、Opti-MEM 培养基、青-链霉素和 0.25%胰蛋白酶均购自美国 Hyclone 公司;LXR

激动剂 TO901317 购自美国 Sigma-Aldrich 公司;G418 购自 Biosharp 公司上海分公司;A β 42 ELISA 检测试剂盒购自北京博奥森生物技术有限公司;Trizol 细胞裂解液购自美国 Invitrogen 公司;实时荧光定量 PCR(real-time PCR, RT-PCR)试剂盒购自美国 Promega 公司;总蛋白抽提试剂盒、BCA 蛋白浓度检测试剂盒、苯甲基磺酰氟(PMSF)和 RIPA 蛋白裂解液均购自上海碧云天生物技术有限公司;除了内参 β -actin 和辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗购自北京博奥森生物技术有限公司外,其余所有抗体均购自英国 Abcam 公司;电化学发光(ECL)试剂盒购自美国 Millipore 公司。

1.2 方法

1.2.1 配置培养基

N2a/APP695swe 细胞培养基:称取 G418 粉剂 40 mg 溶于 10 mL DMEM 中,过滤后加入 84 mL DMEM、94 mL Opti-DMEM、10 mL 胎牛血清、2 mL 青链霉素,共配制 200 mL 培养基;N2a/wt 细胞培养基:94 mL DMEM、94 mL Opti-DMEM、10 mL 胎牛血清、2 mL 青-链霉素,以上液体按比例配制好后放入 4 °C 冰箱保存备用。

1.2.2 细胞培养和 TO901317 处理

将 N2a/APP695swe 细胞和 N2a/wt 细胞复苏后,贴壁生长于上述配置的培养基中,置 37 °C 5% CO₂ 湿度饱和的培养箱中培养。将 TO901317 溶于 DMSO:磷酸盐缓冲液(PBS)为 1:3 的溶液中,形成浓度分别为 5、10 和 20 μ mol/L 的 TO901317 混合溶液,然后加入 N2a/APP695swe 细胞培养瓶中,以 N2a/wt 细胞作为对照。

1.2.3 ELISA 检测细胞 A β 42 浓度

各组细胞(N2a/wt 组、N2a/APP695swe 组、DM-SO 对照组,以及经 5、10 和 20 μ mol/L TO901317 处理 N2a/APP695swe 细胞的各 TO901317 处理组)经胰蛋白酶消化离心后收集上清液,加入 20 μ L Protease Inhibitor Cocktail Set 1,至终浓度为 1 mmol/L,以防一系列蛋白酶降解 A β ,分装保存于 -20 °C。做好试剂和标准品的制备工作后,按照说明书进行操作:取出 96 孔板,加入标准品、待测样品后,再加入 50 μ L A β 42 检测抗体,同时设空白对照组,橡皮膏条封存,置室温 3 h;洗涤 4 遍,甩掉板中液体后用吸水纸吸干,加入 100 μ L 兔抗 IgG-HRP 工作液,封存并置室温 30 min;吸干水分后再加入 100 μ L 稳定液,封存,置室温 30 min;再加入 100 μ L 终止液,终止显色,用酶标仪在 450 nm 波长下读取吸光度(A₄₅₀)值,然后根据标准曲线计算出 A β 42 的浓度。

1.2.4 RT-PCR 检测细胞 caveolin-1、BACE1 与 APP mRNA 水平

各组细胞(N2a/wt 组、N2a/APP695swe 组、DM-SO 对照组、20 μ mol/L TO901317 处理组)经胰蛋白

酶消化离心弃上清液,用 Trizol 法提取总 RNA。 β -actin:正向 5'-GCC ATG TAC GTA GCC ATC CA-3',反向 5'-GAA CCG CTC ATT GCC GAT AG-3'; APP mRNA:正向 5'-GGT GGC TGA GGA GAT TCA AG-3',反向 5'-ATG AGA GCG TCG TTT CCG TA-3'; BACE1 mRNA:正向 5'-GGC GGG AGT GGT ATT ATG AA-3',反向 5'-GTG ATG CGG AAG GAC TGA TT-3'; caveolin-1:正向 5'-TAT GAC GCG CAC ACC AAG GA-3',反向 5'-GCC CAG ATG TGC AGG AAG GA-3'。反应体系:Go Taq Green Master Mix 12.5 μ L,逆转录产物(cDNA)2.5 μ L,下游引物 1 μ L,上游引物 1 μ L,无核酸酶水 8 μ L,总体积 25 μ L。PCR 反应步骤:预变性 94 $^{\circ}$ C 3 min;变性 94 $^{\circ}$ C 30 s;退火 58 $^{\circ}$ C 30 s;延伸 72 $^{\circ}$ C 45 s。

1.2.5 Western blot 检测细胞 caveolin-1、BACE1 与 APP 水平

各组细胞(N2a/wt 组、N2a/APP695swe 组、DMSO 对照组、20 μ mol/L TO901317 处理组)经胰蛋白酶消化离心弃上清液,加入 1 mL RIPA 蛋白裂解液,充分裂解后于 4 $^{\circ}$ C,13 000 r/min 离心 15 min 后,用 Bradford 法测定每组蛋白样品浓度并分装保存。配置 8%~10% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)胶,上样 50 μ g 经十二烷基硫酸钠-PAGE(SDS-PAGE),将蛋白转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,用 5%脱脂奶粉室温封闭 2 h,然后置入 TBST 缓冲液稀释的抗体 caveolin-1、APP、BACE1 和内参 β -actin,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;充分洗涤后加入 1:5 000 的 HRP 标记的羊抗兔二抗,室温孵育 2 h,最后用 ECL 试剂盒行曝光显影,经 Bio-rad Chemical Dox XRS 凝胶成像系统进行条带的分析。

1.3 统计学处理

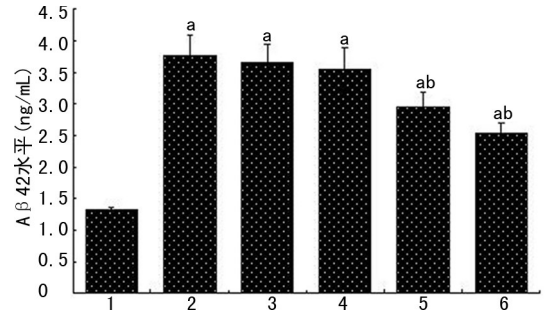
应用 SPSS22.0 统计软件进行统计分析,所有符合正态分布计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK- q 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TO901317 降低了 N2a/APP695swe 细胞内 A β 42 的生成

ELISA 结果显示:正常 N2a/wt 细胞(N2a/wt 组)上清液中分泌的 A β 42 为(1.33 $\pm$ 0.33)ng/mL,低于 N2a/APP695swe 细胞(N2a/APP695swe 组)的(3.78 $\pm$ 0.31) ng/mL,以及 DMSO 处理后的 N2a/APP695swe 细胞(DMSO 对照组)生成的 A β 42 水平(3.67 $\pm$ 0.28) ng/mL,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。经 5 μ mol/L TO901317 处理后,细胞上清液中生成的 A β 42 水平为(3.55 $\pm$ 0.34)ng/mL,与 N2a/APP695swe 组和 DMSO 对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);随着 TO901317 处理浓度增加至

10、20 μ mol/L,细胞内 A β 42 水平下降至(2.96 $\pm$ 0.23)、(2.54 $\pm$ 0.16)ng/mL,与 N2a/wt 组和 N2a/APP695swe 组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$),且具有浓度-依赖性,见图 1。

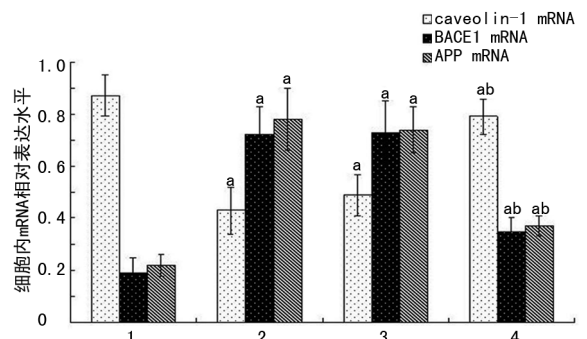


1: N2a/wt 组; 2: N2a/APP695swe 组; 3: DMSO 对照组; 4: 5 μ mol/L TO901317 处理组; 5: 10 μ mol/L TO901317 处理组; 6: 20 μ mol/L TO901317 处理组; ^a: $P < 0.01$, 与 N2a/wt 组比较; ^b: $P < 0.01$, 与 N2a/APP695swe 组比较。

图 1 TO901317 降低 N2a/APP695swe 细胞上清液中 A β 42 的生成

2.2 TO901317 对 N2a/APP695swe 细胞内 caveolin-1、BACE1 和 APP mRNA 水平的影响

RT-PCR 结果表明:与 N2a/wt 组细胞比较,N2a/APP695swe 组细胞内 caveolin-1 mRNA 表达水平明显降低($P < 0.01$),BACE1 和 APP mRNA 表达水平明显升高($P < 0.01$)。N2a/APP695swe 细胞经 DMSO 处理后(DMSO 对照组),细胞内 caveolin-1、BACE1 和 APP mRNA 表达水平与 N2a/APP695swe 组比较无明显差异($P > 0.05$);而经 20 μ mol/L TO901317 处理后,N2a/APP695swe 细胞中 caveolin-1 mRNA 表达水平较 N2a/APP695swe 组明显升高($P < 0.01$),BACE1 和 APP mRNA 表达水平较 N2a/APP695swe 组明显下降($P < 0.01$),见图 2。



1: N2a/wt 组; 2: N2a/APP695swe 组; 3: DMSO 对照组; 4: 20 μ mol/L TO901317 处理组; ^a: $P < 0.01$, 与 N2a/wt 组比较; ^b: $P < 0.01$, 与 N2a/APP695swe 组比较。

图 2 TO901317 对 N2a/APP695swe 细胞内 caveolin-1、BACE1 和 APP mRNA 的影响

2.3 TO901317 对 N2a/APP695swe 细胞内 caveolin-1、BACE1 和 APP 水平的影响

Western blot 结果表明:与 N2a/wt 组细胞比较,N2a/APP695swe 组细胞内 caveolin-1 表达水平明显降低($P < 0.01$),BACE1 和 APP 表达水平明显升高

($P < 0.01$)。经 DMSO 处理后, N2a/APP695swe 细胞内(DMSO 对照组) caveolin-1、BACE1 和 APP 表达水平与 N2a/APP695swe 组比较无明显差异($P > 0.05$); 而经 20 $\mu\text{mol/L}$ TO901317 处理后, N2a/APP695swe 细胞中 caveolin-1 表达水平较 N2a/APP695swe 组明显升高($P < 0.01$), BACE1 和 APP 表达水平较 N2a/APP695swe 组明显降低($P < 0.01$), 见图 3。

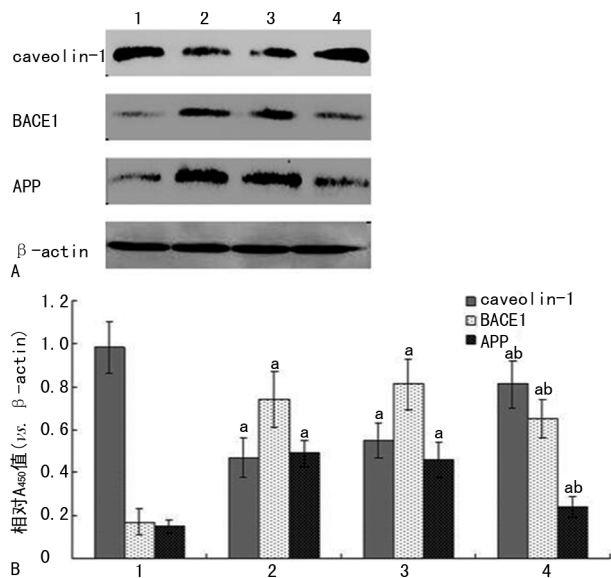


图 3 TO901317 对 N2a/APP695swe 细胞内 caveolin-1、BACE1 和 APP 表达的影响

3 讨论

AD 是常见的痴呆类型, 其发病机制尚不完全清楚。A β 在脑组织中生成过度或清除障碍都可能引起 A β 的沉积并形成老年斑, 这是诱发 AD 的共同通路, 也是目前公认的 AD 的关键致病因素。因此, 寻找抑制 A β 产生的药物成为防治 AD 的重要研究方向。

A β 由 APP 剪切而来, 其方式有 α -分泌酶剪切途径和 BACE1 剪切途径^[11]。通常情况下, 只有少部分 α -分泌酶的小片段位于脂筏内, 其绝大部分片段则位于含胆固醇极低的非脂筏区。而 BACE1 和 γ -分泌酶都存在于富含胆固醇的脂筏区。当细胞内胆固醇水平升高时, α -分泌酶发生了移位, 从非脂筏区移至膜上脂筏区, 这一位置的改变不仅增加了 α -分泌酶对 APP 的剪切, 还促进了 BACE1 的糖基磷酸化, 进而显著提高 γ -分泌酶的活性, 最终促进了 A β 的生成^[12]。在本实验中, 体外培养稳定表达 APP 的 N2a/APP695swe 细胞, 结果显示在该细胞内脂筏亚结构域质膜微囊标志性蛋白 caveolin-1 表达较弱, 而 APP 和 BACE1 表达水平较高, 产生的 A β 42 更多。

研究表明, 胆固醇水平与生成的 A β 水平呈正相

关; 降低体内胆固醇水平会减少 A β 生成^[5]。胆固醇的外排主要通过两个途径: B 类 I 型清道夫受体 (SR-BI) 跨膜转运体系、ABCA1 跨膜转运体系。前者经证实 AD 神经元的胆固醇外流转运中未发挥关键作用^[13], 而后者则通过 LXR/RXR 的联合调控, 介导细胞内游离胆固醇和磷脂偶联后向外转运, 与 AD 的发生、发展密切联系。RIDDELL 等^[14] 利用 LXR 激动剂 TO901317 处理转基因鼠 Tg2576 后, 发现小鼠海马区 A β 沉积显著减少, 记忆能力也增强。美国匹兹堡大学的 FITZ 等^[15] 也使用 TO901317 处理 APP 转基因小鼠, 结果显示 TO901317 促进了高脂饮食饲喂转基因小鼠大脑组织中 A β 的清除, 并改善了小鼠的认知功能, 但其机制并未阐明。在本研究中也发现, TO901317 处理 N2a/APP695swe 细胞后, 细胞内的 A β 42 生成减少, 且呈浓度依赖性; 进一步发现, TO901317 处理后, N2a/APP695swe 细胞内的 caveolin-1 表达增强, 而 APP 和 BACE1 表达则降低。

综上所述, 在 AD 的发生、发展过程中, 胆固醇的转运障碍导致了脂筏的构成发生改变, 进而引起脂筏上与 A β 生成密切相关的关键蛋白的增加。而 LXR 激动剂 TO901317 能通过激活 LXR 启动胆固醇的外排过程, 改善脂筏的构成 (增强 caveolin-1 的表达), 从而抑制脂筏上 APP 和 BACE1 的募集, 进而阻碍 APP 的剪切, 最终抑制 A β 的生成。

参考文献

- [1] KENT S A, SPIRES-JONES T L, DURRANT C S. The physiological roles of tau and A β : implications for Alzheimer's disease pathology and therapeutics [J]. Acta Neuropathol, 2020, 140(4): 417-447.
- [2] RIITANO G, MANGANELLI V, CAPOZZI A, et al. LPR6 mediated signal transduction pathway triggered by tissue plasminogen activator acts through lipid rafts in neuroblastoma cells [J]. J Cell Commun Signal, 2020, 14(3): 315-323.
- [3] MONTESINOS J, PERA M, LARREA D, et al. The Alzheimer's disease-associated C99 fragment of APP regulates cellular cholesterol trafficking [J]. EMBO J, 2020, 39(20): e103791.
- [4] WANG S, ZENG M, REN Y, et al. In vivo reduction of hippocampal caveolin-1 by RNA interference alters morphine addiction and neuroplasticity changes in male mice [J]. Neurosci Lett, 2021, 749: 135742.
- [5] LANGNESS V F, VAN D R, DAS U, et al. Cholesterol-lowering drugs reduce APP processing

- to A β by inducing APP dimerization[J]. *Mol Biol Cell*, 2021, 32(3):247-259.
- [6] BEHL T, KAUR I, SEHGAL A, et al. The interplay of ABC transporters in A β translocation and cholesterol metabolism: implicating their roles in Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(4):1564-1582.
- [7] PAHNKE J, BASCUÑANA P, BRACKHAN M, et al. Strategies to gain novel Alzheimer's disease diagnostics and therapeutics using modulators of ABCA transporters[J]. *Free Neuro-pathol*, 2021, 2:33.
- [8] KOLDAMOVA R, FITZ N F, LEFTEROV I. ATP-binding cassette transporter A1: from metabolism to neurodegeneration[J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 72(Pt A):13-21.
- [9] NAVAS G M, LOPEZ-BLANCO R, CORREA J, et al. Liver X receptor activation with an intranasal polymer therapeutic prevents cognitive decline without altering lipid levels[J]. *ACS Nano*, 2021, 15(3):4678-4687.
- [10] MARTENS N, SCHEPERS M, ZHAN N, et al. 24 (S)-Saringosterol prevents cognitive decline in a mouse model for Alzheimer's disease[J]. *Mar Drugs*, 2021, 19(4):190.
- [11] AOW J, HUANG T R, THINAKARAN G, et al. Enhanced cleavage of APP by co-expressed
- Bac1 alters the distribution of APP and its fragments in neuronal and non-neuronal cells[J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59(5):3073-3090.
- [12] ZHANG X L, ZHAO N, XU B, et al. Treadmill exercise inhibits amyloid- β generation in the hippocampus of APP/PS1 transgenic mice by reducing cholesterol-mediated lipid raft formation[J]. *Neuroreport*, 2019, 30(7):498-503.
- [13] THANOPOULOU K, FRAGKOULI A, STYLIANOPOULOU F, et al. Scavenger receptor class B type I (SR-BI) regulates perivascular macrophages and modifies amyloid pathology in an Alzheimer mouse model[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(48):20816-20821.
- [14] RIDDELL D R, ZHOU H, COMERY T, et al. The LXR agonist TO901317 selectively lowers hippocampal A β 42 and improves memory in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2007, 34(4):621-628.
- [15] FITZ N F, CRONICAN A, PHAM T, et al. Liver X receptor agonist treatment ameliorates amyloid pathology and memory deficits caused by high-fat diet in APP23 mice[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(20):6862-6872.

(收稿日期:2021-12-28 修回日期:2022-03-08)

(上接第 1998 页)

- [8] 严婧,何志旭,栾佐,等.抑制 c-Met 信号通路可增加白血病细胞株对硼替佐米的化疗敏感性[J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36(10):3956-3962.
- [9] 王金西,郭晓娟,程锦红,等.慢病毒介导的靶向 c-Met 可诱导 shRNA 稳定乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系的构建及生物活性鉴定[J]. *生物技术通讯*, 2020, 31(4):392-398.
- [10] MIRANDA O, FAROOQUI M, SIEGFRIED J M. Status of agents targeting the HGF/c-Met axis in lung cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 10(9):280-297.
- [11] JONES G S, HOADLEY K A, OLSSON L T, et al. Hepatocyte growth factor pathway expression in breast cancer by race and subtype[J]. *Breast Cancer Res*, 2021, 23(1):80-90.
- [12] HO-YEN C M, JONES J L, KERMORGANT S. The clinical and functional significance of c-Met in breast cancer: a review[J]. *Breast Cancer Res*, 2015, 17(1):52-60.
- [13] 冯炜红,张斌,赵洪猛,等. c-Met 抑制剂 SGX523 诱导乳腺癌 MDA-MB-231 细胞系的凋亡[J]. *中国肿瘤临床*, 2012, 39(2):61-64.
- [14] O'KEEFE E P. siRNAs and shRNAs: tools for protein knockdown by gene silencing[J]. *Mater Methods*, 2013, 3:197.
- [15] 马德健,曹珍,王贵士,等.沉默肝细胞生长因子受体 c-Met 表达对结肠癌细胞生物学特性的影响[J]. *中华肿瘤杂志*, 2020, 42(5):362-368.
- [16] ZHANG Q, ZHANG H, NING T, et al. Exosome-delivered c-Met siRNA could reverse chemoresistance to cisplatin in gastric cancer[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 4(15):2323-2335.
- [17] JIAO C, CHEN W, TAN X, et al. Ganoderma lucidum spore oil induces apoptosis of breast cancer cells in vitro and in vivo by activating caspase-3 and caspase-9[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 247:112256-112266.

(收稿日期:2021-11-22 修回日期:2022-03-18)