

# 雷帕霉素对宫颈癌HeLa细胞侵袭转移的影响及机制研究

贾利刚\*, 田菲, 张媛(河北省人民医院妇科, 石家庄 050051)

中图分类号 R965;R711 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)16-2225-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.16.19

**摘要** 目的:研究雷帕霉素对宫颈癌HeLa细胞侵袭转移的影响及其机制。方法:将HeLa细胞分为对照组和雷帕霉素低、中、高剂量(10、30、100 nmol/L)组,药物作用48 h后,MTT法检测细胞活力,计算抑制率;Transwell法检测细胞迁移和侵袭能力;Western blot法检测细胞中蛋白激酶B(Akt)、雷帕霉素靶蛋白(mTOR)磷酸化水平,以及基质金属蛋白酶2(MMP-2)、MMP-9、波形蛋白(Vimentin)、钙黏蛋白(E-cadherin)表达水平。结果:与对照组比较,雷帕霉素各剂量组细胞的抑制率增加( $P<0.01$ ),迁移细胞数目和侵袭细胞数目减少( $P<0.01$ ),MMP-2、MMP-9、Vimentin表达水平降低( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ),E-cadherin表达水平增强( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ),Akt及mTOR磷酸化水平降低( $P<0.01$ )。结论:雷帕霉素可通过Akt/mTOR信号通路抑制HeLa细胞的侵袭转移。

**关键词** 雷帕霉素;蛋白激酶B/雷帕霉素靶蛋白信号通路;宫颈癌HeLa细胞;侵袭;转移

## Study on Effects and Mechanism of Rapamycin on Invasion and Metastasis of Cervical Cancer HeLa Cells

JIA Ligang, TIAN Fei, ZHANG Yuan (Dept. of Gynaecology, Hebei Provincial People's Hospital, Shijiazhuang 050051, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the effects and mechanism of rapamycin on invasion and metastasis of cervical cancer HeLa cell. METHODS: HeLa cells were divided into control group and rapamycin low-dose, medium-dose and high-dose groups (10, 30, 100 nmol/L). After treated for 48 h, cell viability was measured by MTT assay, and inhibitory rate was calculated; migration and invasion of cell was tested by Transwell assay. The expression of matrix metalloproteinase 2 (MMP-2), MMP-9, Vimentin and E-cadherin, and phosphorylation of protein kinase B (Akt), mammalian target of rapamycin (mTOR) were detected by Western blot. RESULTS: Compared with control group, the inhibition rate of cell viability was increased in rapamycin groups ( $P<0.01$ ); the number of invasion and metastasis cells decreased ( $P<0.01$ ); the expression of MMP-2, MMP-9 and Vimentin were decreased ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ); the expression of E-cadherin was enhanced ( $P<0.01$  or  $P<0.05$ ); the phosphorylation of Akt and mTOR were reduced ( $P<0.01$ ). CONCLUSIONS: Rapamycin could inhibit invasion and metastasis of HeLa cell via Akt/mTOR signal pathway.

**KEYWORDS** Rapamycin; Protein kinase B/mammalian target of rapamycin signal pathway; Cervical cancer HeLa cell; Invasion; Metastasis

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤,发病率在女性恶性肿瘤中居第2位,仅次于乳腺癌,而病死率居首位,且发病患者呈现年轻化趋势<sup>[1-2]</sup>。目前宫颈癌的侵袭转移、局部复发仍是绝大多数患者治疗失败的主要原因,是临床诊断、治疗及实验室研究中亟待解决的难题<sup>[3-4]</sup>。因此针对肿瘤的侵袭转移,寻找新的高效的宫颈癌治疗药物,以期对肿瘤的侵袭转移发挥最大限度的遏制作用,从而预防治疗宫颈癌。雷帕霉素(Rapamycin),又名西罗莫司,分子式为 $C_{51}H_{79}O_{13}$ ,分子质量为914 200,是从吸水性链霉菌发酵液中提取出来的一种大环内酯类免疫抑制剂化合物,临床上已广泛应用于多种肿瘤的治疗。基础研究也证实,雷帕霉素能显著抑制骨肉瘤、膀胱癌、宫颈癌、皮肤癌等多种肿瘤的生长,具有诱导肿瘤细胞凋亡、抑制细胞增殖的作用<sup>[5-7]</sup>。而关于雷帕霉素对宫颈癌侵袭转移的作用及具体机制的研究仍不充分,因此,本文研究了雷帕霉素对宫颈癌HeLa细胞侵袭转移的影响及具体作用机制。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Eclipse TS100 倒置显微镜(日本Nikon公司);Chemi-

\* 主治医师,硕士。研究方向:妇科肿瘤。电话:0311-85988742。E-mail:shjzjialigang@126.com

Doc™ XRS凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);5417R离心机(美国Eppendorf公司);Tecan Infinite F200/M200多功能酶标仪(瑞士Tecan公司)。

### 1.2 药品与试剂

注射用雷帕霉素注射剂(美国Sigma公司,批号:HY-10219,规格:每瓶50 mg);MTT试剂、BCA蛋白定量试剂盒、增强化学发光(ECL)液、小鼠抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)(H+L)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L)均购自江苏南通碧云天生物技术研究;兔抗雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、磷酸化mTOR(p-mTOR)、蛋白激酶B(Akt)、p-Akt抗体(美国Epitomics公司);兔抗基质金属蛋白酶2(MMP-2)、MMP-9、波形蛋白(Vimentin)、钙黏蛋白(E-cadherin)多克隆抗体(美国Abcam公司);Transwell小室(美国Corning公司,批号:3422);胎牛血清、DMEM培养基、胰蛋白酶(美国Gibco公司)。

### 1.3 细胞

宫颈癌HeLa细胞购于中国科学院上海细胞库。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养、分组与给药<sup>[8]</sup>

取HeLa细胞置于含15%胎牛血清的改良DMEM培养基

中,于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养至近80%融合程度,待分组检测。将细胞分为对照组(不含雷帕霉素)和雷帕霉素低、中、高剂量(10、30、100 nmol/L)组,其中雷帕霉素的加药剂量根据预试验筛选得到。

## 2.2 MTT法检测细胞活力

将HeLa细胞的密度调整为4×10<sup>3</sup>个/ml,取200 μl接种于96孔板,于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h。按“2.1”项下方法进行分组、给药,继续培养24、48、72 h;加20 μl MTT(5 mg/ml),培养4 h后,弃上清,加150 μl二甲亚砷(DMSO),使结晶充分溶解。在酶标仪570 nm波长处测定光密度(OD值),以OD值代表细胞活力。每组试验重复3次,计算抑制率(%)=[(对照组OD值-试验组OD值)/对照组OD值]×100%。

## 2.3 Transwell细胞迁移试验检测细胞迁移能力

将HeLa细胞密度调整为8×10<sup>3</sup>个/ml,取1 ml接种于6孔板,于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h。按“2.1”项下方法进行分组、给药,继续培养48 h,收集细胞。将细胞消化加入Transwell小室(24孔板,8 μm)上室,下室为DMEM培养基,继续培养24 h;取出小室,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,多聚甲醛固定,结晶紫染色。100倍倒置显微镜下随机取5个视野进行细胞计数,计算平均每个视野的细胞数目(即穿过滤膜进入下室的细胞数),以此表示细胞的迁移能力。每组试验重复3次。

## 2.4 Transwell细胞侵袭试验检测细胞侵袭能力

将基质胶(Matrigel)均匀平铺于Transwell小室微膜上,制成凝胶备用。其余步骤同“2.3”项,计算平均每个视野的细胞数目(即穿过滤膜进入下室的细胞数),以此表示细胞的侵袭能力。每组试验重复3次。

## 2.5 Western blot法检测Akt/mTOR信号通路相关蛋白表达水平

按“2.3”项下方法进行细胞培养、分组、给药、收集细胞,加入RIPA裂解液,裂解;以离心半径为15 cm、10 000 r/min离心10 min,收获蛋白。小心吸取上清,即可获得总蛋白。根据BCA蛋白定量试剂盒对蛋白浓度进行测定。蛋白上样,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳后湿法转聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。将膜浸入一抗溶液(小鼠抗GAPDH单克隆抗体,兔抗mTOR、p-mTOR、Akt、p-Akt、MMP-2、MMP-9、Vimentin、E-cadherin抗体,稀释比例:1:100)孵育,4℃过夜;三羟甲基氨基甲烷盐酸盐溶液(TBST)漂洗后,浸入二抗溶液[辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L),辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠IgG(H+L),稀释比例:1:500]中室温孵育1~2 h。膜取出用TBST漂洗,在膜上滴加ECL液,在凝胶成像系统中曝光。用“Quantity One”软件对各蛋白灰度值进行统计。以MMP-2、MMP-9与GAPDH灰度值的比值表示相应蛋白的相对表达量;以p-mTOR/mTOR、p-Akt/Akt灰度值的比值分别表示mTOR、Akt的磷酸化水平。每组试验重复3次。

## 2.6 统计学方法

采用SPSS 17.0统计软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用*t*检验,多组间比较用单因素方差分析(One-way ANOVA)。P<0.05表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 雷帕霉素对HeLa细胞活力的影响

作用24、48、72 h时,与对照组比较,雷帕霉素各剂量组中细胞的抑制率明显增加(P<0.01);与雷帕霉素低剂量组比较,雷帕霉素中、高剂量组中细胞的抑制率明显增加(P<0.01);与雷帕霉素中剂量组比较,雷帕霉素高剂量组中细胞的抑制率

明显增加(P<0.01)。且作用48 h与作用72 h的细胞抑制率几乎相同,所以后续试验选择48 h作为药物作用时间。各组HeLa细胞抑制率的检测结果见表1。

表1 各组HeLa细胞抑制率的检测结果( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

Tab 1 Inhibitory rate of HeLa cell viability in each group ( $\bar{x} \pm s, n=3, \%$ )

组别	24 h	48 h	72 h
对照组	0	0	0
雷帕霉素低剂量组	3.39±0.29*	18.65±1.92*	18.46±2.10*
雷帕霉素中剂量组	14.71±1.46**	34.37±3.65**	33.78±3.41**
雷帕霉素高剂量组	23.65±2.70** <sup>Δ</sup>	48.43±4.56** <sup>Δ</sup>	48.39±4.73** <sup>Δ</sup>

注:与对照组比较,\*P<0.01;与雷帕霉素低剂量组比较,<sup>Δ</sup>P<0.01;与雷帕霉素中剂量组比较,<sup>Δ</sup>P<0.01

Note: vs. control group, \*P<0.01; vs. rapamycin low-dose group, <sup>Δ</sup>P<0.01; vs. rapamycin medium-dose group, <sup>Δ</sup>P<0.01

### 3.2 雷帕霉素对HeLa细胞迁移能力的影响

细胞迁移试验中,与对照组比较,雷帕霉素各剂量组穿过滤膜进入下室的细胞数目明显减少(P<0.01);与雷帕霉素低剂量组比较,雷帕霉素中、高剂量组穿过滤膜进入下室的细胞数目明显减少(P<0.01);与雷帕霉素中剂量组比较,雷帕霉素高剂量组穿过滤膜进入下室的细胞数目明显减少(P<0.05)。各组HeLa细胞迁移能力的显微镜图见图1,细胞数目检测结果见表2。

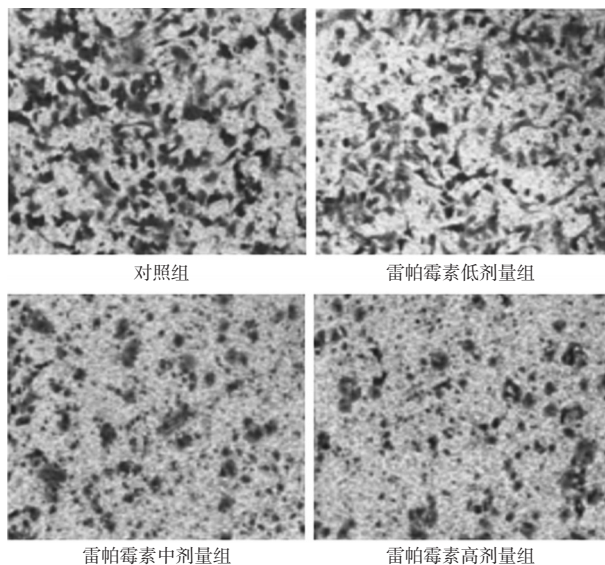


图1 各组HeLa细胞迁移能力的显微镜图(×100)

Fig 1 Microgram of migration ability of HeLa cell in each group(×100)

表2 各组HeLa细胞迁移和侵袭的细胞数目检测结果(个,  $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 2 The number of HeLa cell migration and invasion in each group(number,  $\bar{x} \pm s, n=3$ )

试验	对照组	雷帕霉素低剂量组	雷帕霉素中剂量组	雷帕霉素高剂量组
迁移	99.42±9.38	85.38±5.87*	63.63±5.81**	49.56±5.21** <sup>Δ</sup>
侵袭	99.57±9.22	65.64±6.36*	42.30±6.38**	30.23±5.07** <sup>Δ</sup>

注:与对照组比较,\*P<0.01;与雷帕霉素低剂量组比较,<sup>Δ</sup>P<0.01;与雷帕霉素中剂量组比较,<sup>Δ</sup>P<0.01

Note: vs. control group, \*P<0.01; vs. rapamycin low-dose group, <sup>Δ</sup>P<0.01; vs. rapamycin medium-dose group, <sup>Δ</sup>P<0.01

### 3.3 雷帕霉素对HeLa细胞侵袭能力的影响

细胞侵袭试验中,与对照组比较,雷帕霉素各剂量组穿过滤膜进入下室的细胞数目明显减少( $P<0.01$ );与雷帕霉素低剂量组比较,雷帕霉素中、高剂量组穿过滤膜进入下室的细胞数目明显减少( $P<0.01$ );与雷帕霉素中剂量组比较,雷帕霉素高剂量组穿过滤膜进入下室的细胞数目明显减少( $P<0.01$ )。各组HeLa细胞侵袭能力的显微镜图见图2,细胞数目检测结果见表2。

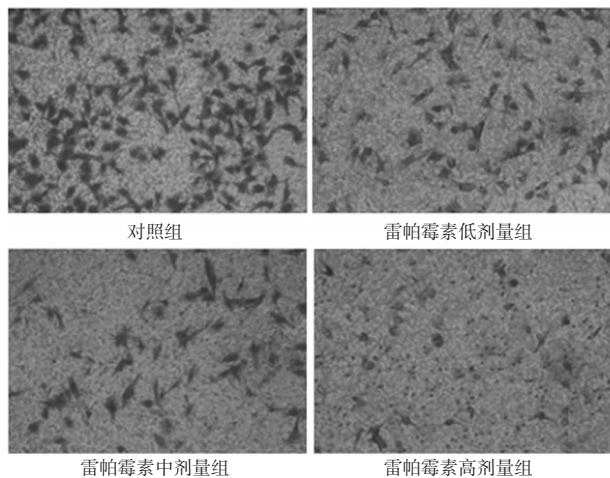


图2 各组HeLa细胞侵袭能力的显微镜图( $\times 100$ )

Fig 2 Microgram of invasion ability of HeLa cell in each group( $\times 100$ )

### 3.4 雷帕霉素对HeLa细胞Akt/mTOR信号通路相关蛋白表达的影响

与对照组比较,雷帕霉素各剂量组HeLa细胞中p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR比值明显降低( $P<0.01$ );与雷帕霉素低剂量组比较,雷帕霉素中、高剂量组细胞中p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR比值明显降低( $P<0.01$ );与雷帕霉素中剂量组比较,雷帕霉素高剂量组细胞中p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR比值明显降低( $P<0.01$ )。各组HeLa细胞中Akt、mTOR磷酸化蛋白表达的电泳图见图3,检测结果见表3。

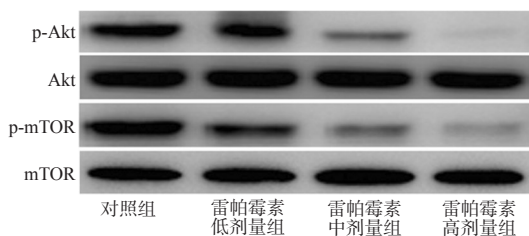


图3 各组HeLa细胞中Akt、mTOR磷酸化蛋白表达电泳图

Fig 3 Electrophoretogram of Akt/mTOR phosphorylation protein expression in HeLa cell of each group

### 3.5 雷帕霉素对HeLa细胞中MMPs相对表达量的影响

与对照组比较,雷帕霉素各剂量组细胞中MMP-2、MMP-9相对表达量明显降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );与雷帕霉素低剂量组比较,雷帕霉素中、高剂量组细胞中MMP-2、MMP-9相对表达量明显降低( $P<0.01$ );与雷帕霉素中剂量组比较,雷帕霉素高剂量组细胞中MMP-2、MMP-9相对表达量明显降低( $P<0.01$ )。各组HeLa细胞中MMP-2、MMP-9蛋白表达的电泳图见图4,检测结果见表4。

### 3.6 雷帕霉素对HeLa细胞中Vimentin及E-cadherin相对表达量的影响

表3 各组HeLa细胞中Akt、mTOR磷酸化水平的检测结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 3 The phosphorylation level of Akt、mTOR in HeLa cell of each group( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	p-Akt/Akt	p-mTOR/mTOR
对照组	0.95 ± 0.10	1.13 ± 0.13
雷帕霉素低剂量组	0.81 ± 0.08*	0.79 ± 0.08*
雷帕霉素中剂量组	0.36 ± 0.04**	0.33 ± 0.04**
雷帕霉素高剂量组	0.17 ± 0.02*** <sup>Δ</sup>	0.23 ± 0.02*** <sup>Δ</sup>

注:与对照组比较,\* $P<0.01$ ;与雷帕霉素低剂量组比较,# $P<0.01$ ;与雷帕霉素中剂量组比较,<sup>Δ</sup> $P<0.01$

Note: vs. control group,\* $P<0.01$ ; vs. rapamycin low-dose group,# $P<0.01$ ; vs. rapamycin medium-dose group,<sup>Δ</sup> $P<0.01$

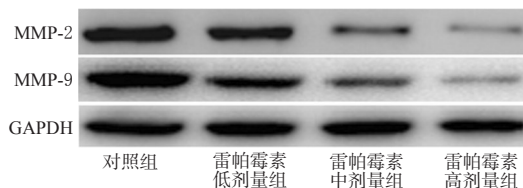


图4 各组HeLa细胞中MMP-2、MMP-9蛋白表达电泳图

Fig 4 Electrophoretogram of MMP-2 and MMP-9 protein expression in HeLa cell of each group

表4 各组HeLa细胞中MMP-2、MMP-9蛋白表达的检测结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 4 The expression of MMP-2 and MMP-9 protein in HeLa cell of each group( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	MMP-2/GAPDH	MMP-9/GAPDH
对照组	1.07 ± 0.11	1.16 ± 0.13
雷帕霉素低剂量组	0.94 ± 0.10*	0.83 ± 0.08**
雷帕霉素中剂量组	0.40 ± 0.04***	0.42 ± 0.05***
雷帕霉素高剂量组	0.24 ± 0.03*** <sup>Δ</sup>	0.25 ± 0.02*** <sup>Δ</sup>

注:与对照组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与雷帕霉素低剂量组比较,# $P<0.01$ ;与雷帕霉素中剂量组比较,<sup>Δ</sup> $P<0.01$

Note: vs. control group,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ; vs. rapamycin low-dose group,# $P<0.01$ ; vs. rapamycin medium-dose group,<sup>Δ</sup> $P<0.01$

与对照组比较,雷帕霉素各剂量组细胞中Vimentin相对表达量明显降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),E-cadherin相对表达量明显增加( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );与雷帕霉素低剂量组比较,雷帕霉素中、高剂量组细胞中Vimentin相对表达量明显降低( $P<0.01$ ),E-cadherin相对表达量明显增加( $P<0.01$ );与雷帕霉素中剂量组比较,雷帕霉素高剂量组细胞中Vimentin相对表达量明显降低( $P<0.01$ ),E-cadherin相对表达量明显增加( $P<0.01$ )。各组HeLa细胞中Vimentin、E-cadherin蛋白表达的电泳图见图5,检测结果见表5。

## 4 讨论

肿瘤的恶性增殖、侵袭及转移是宫颈癌预后差的主要原因之一,所以本研究通过MTT法及Transwell试验检测在雷帕霉素作用后,HeLa细胞活力、迁移及侵袭能力的变化。结果表明,雷帕霉素能剂量依赖性地抑制HeLa细胞活力,与单广夷等<sup>[5]</sup>在膀胱癌T24细胞、吴洁玲等<sup>[6]</sup>在宫颈癌HeLa细胞、曹平等<sup>[7]</sup>在骨肉瘤MG-63细胞中发现的雷帕霉素作用效果一致。同时雷帕霉素能显著减少细胞迁移及侵袭数目,与郭思佳等<sup>[8]</sup>研究发现的雷帕霉素能显著抑制皮肤鳞癌A431细胞侵袭转移能力一致。以上提示雷帕霉素不仅能抑制HeLa细胞的活

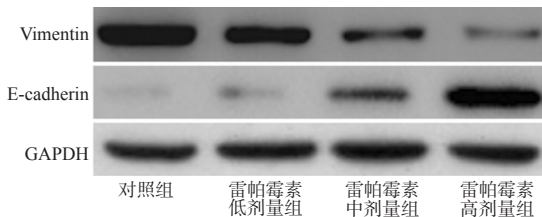


图5 各组HeLa细胞中Vimentin、E-cadherin蛋白表达电泳图  
Fig 5 Electrophoretogram of Vimentin and E-cadherin protein expression in HeLa cell of each group

表5 各组HeLa细胞中Vimentin、E-cadherin蛋白表达的检测结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Tab 5 The expression of Vimentin and E-cadherin protein in HeLa cell of each group ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	Vimentin/GAPDH	E-cadherin/GAPDH
对照组	1.52 ± 0.20	0.15 ± 0.00
雷帕霉素低剂量组	1.04 ± 0.10*	0.23 ± 0.08*
雷帕霉素中剂量组	0.47 ± 0.05***	0.46 ± 0.05***
雷帕霉素高剂量组	0.29 ± 0.03***Δ	1.15 ± 0.12***Δ

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与雷帕霉素低剂量组比较,# $P < 0.01$ ;与雷帕霉素中剂量组比较,Δ $P < 0.01$

Note: vs. control group,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ; vs. rapamycin low-dose group,# $P < 0.01$ ; vs. rapamycin medium-dose group,Δ $P < 0.01$

力,亦能显著地抑制其迁移侵袭能力。

肿瘤的侵袭转移能力与多种信号通路有关,mTOR信号通路就是其中一种。mTOR亦是雷帕霉素在肿瘤细胞中的作用靶点<sup>[9]</sup>。mTOR是一种非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,位于1p36.2,因为其C端结构域与磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)的催化结构域高度同源,所以也属于磷脂酰肌醇激酶相关激酶(PIKK)家族。在宫颈癌等肿瘤细胞中,PI3K/AKT信号通路受上游信号刺激后,经过一系列信号传导后,Akt被磷酸化,活化的Akt可激活下游底物mTOR,进而调节下游蛋白分子如4E结合蛋白1(4EBP1)、细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)及MMP-9表达,从而促进肿瘤细胞生长、增殖、迁移、侵袭转移<sup>[10-11]</sup>。因此笔者进一步通过Western blot法检测雷帕霉素作用于细胞后Akt/mTOR信号通路的激活情况,结果表明雷帕霉素能显著抑制Akt及mTOR磷酸化水平,提示雷帕霉素能通过使Akt/mTOR信号通路失活,从而阻止HeLa细胞侵袭转移。

肿瘤的侵袭转移是一个多步骤、多因素参与的生物学过程,细胞外基质的降解是肿瘤侵袭转移的必经步骤,MMPs是降解细胞外基质的最重要的一组蛋白酶。MMP-2和MMP-9是研究最为广泛彻底的MMPs,能够降解细胞外基质和基底膜,从而增加细胞的运动能力,促进肿瘤的扩散和转移。上皮细胞转间充质化(EMT)最早在胚胎发育过程中得到证实,是侵袭能力最强的肿瘤细胞的特性<sup>[12-13]</sup>。EMT的分子标志性特征为细胞间黏附分子E-cadherin的表达下调,一系列间充质标记物的表达上调,包括N-cadherin、Vimentin和纤连蛋白。在宫颈鳞状细胞癌中,E-cadherin低表达,MMP-2、MMP-9及Vimentin高表达,且与癌细胞的转移密切相关<sup>[14-15]</sup>。因此逆转MMPs及EMT相关蛋白的表达,能抑制癌细胞的侵袭转移。所以本研究进一步探讨雷帕霉素对HeLa细胞中MMP-2、MMP-9、Vimentin及E-cadherin表达的影响,结果表明雷帕霉素能显著下调MMP-2、MMP-9、Vimentin表达,上调E-cadherin

表达,从而抑制HeLa细胞的侵袭转移能力。

## 参考文献

- [1] Ghose S, Holloway L, Lim K, et al. A review of segmentation and deformable registration methods applied to adaptive cervical cancer radiation therapy treatment planning[J]. *Artif Intell Med*, 2015, 64(2): 75.
- [2] Bukowska-Durawa A, Luszczynska A. Cervical cancer screening and psychosocial barriers perceived by patients: a systematic review[J]. *Contemp Oncol: Pozn*, 2014, 18(3): 153.
- [3] 彭茸,赵纯全.化疗药物在宫颈癌治疗中的应用及研究进展[J]. *中国药房*, 2013, 24(12): 1 143.
- [4] 钟林,王冬.两种方案治疗56例宫颈癌骨转移的回顾性分析[J]. *中国药房*, 2015, 26(26): 3 681.
- [5] 单广夷,付成,陈昂,等.雷帕霉素对膀胱癌5637细胞增殖及细胞周期的影响[J]. *中国医科大学学报*, 2015, 44(3): 230.
- [6] 吴洁玲,韩璐,杨丽肖.雷帕霉素联合顺铂对宫颈癌HeLa细胞生长和对HIF-1α与VEGF表达影响的观察[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2013, 20(14): 1 075.
- [7] 曹平,陈春英,吴俊,等.雷帕霉素体外对骨肉瘤细胞生物学行为的影响及其分子机制[J]. *公共卫生与预防医学*, 2012, 33(4): 42.
- [8] 郭思佳,查晓军,周海胜.雷帕霉素对皮肤鳞癌细胞体外转移潜能的影响[J]. *中国药理学通报*, 2014, 30(4): 550.
- [9] 林辰初,袁胜涛.雷帕霉素靶蛋白信号通路与靶向雷帕霉素靶蛋白抗肿瘤药物研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2013, 22(14): 1 656.
- [10] 冯倩倩,卢丹. mTOR信号通路及其在宫颈癌研究中的进展[J]. *中华妇幼临床医学杂志: 电子版*, 2013, 9(6): 833.
- [11] Shi C, Zhang GB, Yin SW. Effect of bortezomib on migration and invasion in cervical carcinoma HeLa cell[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2015, 8(6): 485.
- [12] Yang JD, Nakamura I, Roberts LR. The tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma: current status and therapeutic targets[J]. *Semin Cancer Biol*, 2011, 21(1): 35.
- [13] Ogunwobi OO, Liu C. Therapeutic and prognostic importance of epithelial-mesenchymal transition in liver cancers: insights from experimental models[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2012, 83(3): 319.
- [14] Cheng Y, Zhou Y, Jiang W, et al. Significance of E-cadherin, beta-catenin, and vimentin expression as postoperative prognosis indicators in cervical squamous cell carcinoma[J]. *Hum Pathol*, 2012, 43(8): 1 213.
- [15] Wang L, Wang Q, Li HL, et al. Expression of MiR200a, miR93, metastasis-related gene RECK and MMP2/MMP9 in human cervical carcinoma: relationship with prognosis[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(3): 2 113.

(收稿日期:2015-12-23 修回日期:2016-02-24)

(编辑:邹丽娟)