

• 实验研究 •

细胞黏附分子在骨肉瘤组织中的表达及沉默细胞黏附分子对骨肉瘤细胞增殖和转移的影响

李贺伟¹ 吴燕茹¹ 阮锋^{1△}

[摘要] **目的:**探究细胞黏附分子(CD44v6)在骨肉瘤组织中的表达及沉默 CD44v6 对骨肉瘤细胞增殖和转移的影响。**方法:**实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)和蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测骨肉瘤组织和细胞中 CD44v6 表达水平。将骨肉瘤细胞 U2OS 分为空白对照组(Control,空白培养细胞)、si-NC 组(转染 si-NC)、si-CD44v6 组(转染 si-CD44v6);qRT-PCR 检测 CD44v6 mRNA 表达水平;Western Blot 检测 CD44v6、增殖细胞核抗原(PCNA)、细胞增殖核抗原 67(Ki67)、钙黏附蛋白 E(E-cadherin)、钙黏附蛋白 N(N-cadherin)、基质金属蛋白酶 9(MMP9)蛋白表达;细胞计数试剂盒(CCK8)、克隆形成实验检测细胞增殖;Transwell 检测细胞迁移、侵袭。**结果:**骨肉瘤组织和细胞(U2OS、MG63)中 CD44v6 mRNA、蛋白表达水平明显高于癌旁组织和成骨细胞 hFOB1.19。si-CD44v6 组骨肉瘤细胞中 CD44v6 mRNA 和蛋白表达水平、PCNA、Ki67、N-cadherin、MMP9 蛋白表达低于 Control 组、si-NC 组, E-cadherin 蛋白表达高于 Control 组、si-NC 组,克隆细胞数目、迁移细胞数目、侵袭细胞数目少于 Control 组、si-NC 组;其中 Control 组、si-NC 组骨肉瘤细胞中各指标差异不显著。**结论:**在骨肉瘤组织和细胞内 CD44v6 高表达,沉默 CD44v6 可抑制骨肉瘤细胞增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化。

[关键词] 细胞黏附分子;骨肉瘤;增殖;迁移;侵袭;上皮间质转化

[中图分类号] R738.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2022)07-0006-05

The Expression of Cell Adhesion Molecule in Osteosarcoma Tissues and the Efficacy of Silencing Cell Adhesion Molecule on the Proliferation and Metastasis of Osteosarcoma Cells

LI Hewei¹ WU Yanru¹ RUAN Feng^{1△}

¹ Liyuan Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430077, China.

Abstract Objective: To explore the expression of cell adhesion molecule (CD44v6) in osteosarcoma tissues and the efficacy of silencing CD44v6 on the proliferation and metastasis of osteosarcoma cells. **Methods:** Real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) and Western Blot were used to detect the expression level of CD44v6 in osteosarcoma tissues and cells. Taking the osteosarcoma cell U2OS as the research object, the cells were divided into blank control group (Control, blank cultured cells), si-NC group (transfected with si-NC) and si-CD44v6 group (transfected with si-CD44v6). The expression level of CD44v6 mRNA was detected by qRT-PCR; Western Blot was used to detect the expression of CD44v6, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), cell proliferating nuclear antigen 67 (Ki67), cadherin E (E-cadherin), cadherin N (N-cadherin) and matrix metalloproteinase 9 (MMP9) Protein; cell counting kit (CCK8) and clone formation test were used to detect cell proliferation. Transwell was used to detect cell migration and invasion. **Results:** The expression levels of CD44v6 mRNA, protein in osteosarcoma tissues and cells (U2OS, MG63) were significantly higher than that in adjacent tissues and osteoblasts hFOB1.19. The expression levels of CD44v6 mRNA, protein, PCNA, Ki67, N-cadherin and MMP9 protein in osteosarcoma cells in the si-CD44v6 group were lower than that in the control and si-NC groups, and the E-cadherin protein expression was higher than those in the control and si-NC groups. The number of cloned cells, migrating cells and invasive cells were less than that of the control group and si-NC group. Among them, there was no significant difference

in the indexes of osteosarcoma cells in the control group and si-NC group. **Conclusion:** The CD44v6 is highly expressed in osteosarcoma tissues and cells. The silence of CD44v6 can inhibit the proliferation, migration, invasion and epithelial-

基金项目:武汉市卫生健康委员会资助项目(武卫通[2019]87号)

¹ 华中科技大学同济医学院附属梨园医院(武汉,430077)

[△]通信作者 E-mail: a787qm@163.com

mesenchymal transition of osteosarcoma cells.

Keywords: cell adhesion molecule;osteosarcoma;proliferation;migration;invasion;epithelial-mesenchymal transition

骨肉瘤主要是从间质细胞发展而来的,也是青少年及儿童常见原发性恶性肿瘤,病死率约占青少年癌症和儿童癌症的 8.9%^[1]。目前,骨肉瘤治疗手段在前期通过化疗或放疗,但是治疗效果不太理想,近年来随着基因测序技术的发展,骨肉瘤分子靶向治疗骨肉瘤的预后得到了实质性提高^[2-3]。因此,寻找新的靶点对治疗骨肉瘤的具有重要意义。CD44v6 是细胞黏附分子 CD44 变异体 6,在正常组织和癌症组织中表达差异明显^[4-5],如子宫内膜癌中 CD44v6 表达水平高于非癌症组织,通过磷酸化 ERK 转导途径促进子宫内膜癌细胞增殖、迁移、侵袭^[6]。也有研究发现,骨肉瘤组织中 CD44v6 高表达,异常表达与转移、总体生存率有关,可以作为骨肉瘤早期诊断的潜在生物标记物^[7],但是关于 CD44v6 对骨肉瘤细胞的具体研究机制报道相对较少。鉴于此,本研究观察了 CD44v6 在骨肉瘤组织和细胞中表达情况,以骨肉瘤细胞 U2OS 作为研究对象,并探究沉默 CD44v6 对骨肉瘤细胞增殖、迁移、侵袭和上皮间质转化的影响。

1 材料和方法

1.1 样本收集

收集来本院确诊为骨肉瘤的患者 37 例,男 22 例,女 15 例;年龄为 15~27 岁。根据 Enneking 分期:ⅡA 期 11 例,ⅡB 期 7 例,Ⅲ期 19 例,其中发生远处转移 22 例。已经获得病理学专家确诊,所有患者术前未接受放疗、化疗及免疫治疗。将切除的骨肉瘤组织、癌旁组织冷冻保存在液氮中。患者均签署了知情同意书,该研究已经获得本院伦理委员会批准。

1.2 细胞和主要试剂

成骨细胞 hFOB1.19、骨肉瘤细胞 U2OS、MG63 购自中国科学院上海细胞库;胎牛血清、DMEM 培养基购自 Gibco 公司;si-NC、si-CD44v6、引物由上海吉玛公司设计合成;Lipfectamine2000 转染试剂盒、TRIzol 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;逆转录试剂盒、荧光定量试剂盒购自日本 TaKaRa 公司;CD44v6 抗体、PCNA 抗体、Ki67 抗体、E-cadherin 抗体、N-cadherin 抗体、MMP9 抗体、GAPDH 抗体购自美国 Abcam 公司;CCK8 试剂盒购自碧云天生物;Transwell、Matrigel 胶购自美国 Corning 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养和分组 成骨细胞 hFOB1.19、骨肉瘤细胞 U2OS、MG63 培养条件为 37℃、5%CO₂,用 10%胎牛血清、双抗的 DMEM 培养基进行孵育。观

察细胞生长状态,细胞融合度达到 85%,使用胰蛋白酶传代培养。取对数期骨肉瘤细胞 U2OS 接种 96 孔板中(接种密度为 1×10⁵ 个/孔),按照 Lipfectamine 2000 转染试剂盒说明书将 si-NC、si-CD44v6 转染细胞中,记为 si-NC 组、si-CD44v6 组,其中 Control 组不作任何处理。细胞转染 6 h 换细胞液,继续培养 48 h 进行后续实验。

1.3.2 qRT-PCR 检测 CD44v6 mRNA 表达水平

取骨肉瘤组织、癌旁组织、成骨细胞 hFOB1.19、骨肉瘤细胞 U2OS、MG63 及各组骨肉瘤细胞 U2OS 按照 TRIzol 试剂盒说明书提取细胞内总 RNA,使用紫外分光光度计检测 D₂₆₀/D₂₈₀ 值,范围在 1.8~2.0 之间。根据逆转录试剂盒说明书将 RNA 合成 cDNA 单链,以 GAPDH 作为内参进行 PCR 扩增反应。采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 CD44v6 mRNA 表达水平。CD44v6 上游引物为 5'-TGCTACCATCCAGGCAACT-3',下游引物为 5'-ATCATTCTATCAGCTGTCC-3';GAPDH 上游引物为 5'-AGCCTCAAGATCATCAGC-3',下游引物为 5'-GAGT-CCTTCCACGATACC-3'。

1.3.3 Western Blot 检测 CD44v6、PCNA、Ki67、E-cadherin、N-cadherin、MMP9 蛋白表达

收集各组骨肉瘤细胞 U2OS 用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,使用 BCA 法进行测定蛋白浓度,取蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳处理,电泳结束将蛋白样品转移 PVDF 膜上,将其封闭培养在脱脂奶粉内 2 h,加入 CD44v6(稀释 1:800)、PCNA(稀释 1:800)、Ki67(稀释 1:800)、E-cadherin(稀释 1:800)、N-cadherin(稀释 1:800)、MMP9(稀释 1:800)、GAPDH(稀释 1:1000),4℃过夜孵育,次日加入 HRP 标记的二抗(稀释 1:3000)室温孵育 2 h,ECL 试剂显色,曝光、拍照。以 GAPDH 作为内参,应用 Quantity-One 软件分析蛋白密度值。

1.3.4 CCK8、克隆形成实验检测细胞增殖情况

CCK8 实验:将骨肉瘤细胞 U2OS 接种 96 孔板中(接种密度为 1×10⁵ 个/孔),按照 1.3 法处理细胞,细胞培养 24,48,72 h,每孔加入 10 μL CCK-8 试剂,继续培养 4 h,用全自动酶标仪检测 450 nm 波长处吸光度值(OD)。

克隆形成实验:将骨肉瘤细胞 U2OS 接种至 6 孔板中(每孔内接种 300 个),按照 1.3.3 节方法处理细胞,将其放到培养箱中培养 14 d,直到肉眼可见克隆时停止培养,用多聚甲醛固定 20 min,结晶紫染色

30 min,在显微镜下观察克隆细胞数目,并拍照。

1.3.5 Transwell 检测细胞迁移、侵袭 迁移实验:收集各组骨肉瘤细胞 U2OS 用不含血清的培养液重悬细胞,细胞密度为 2.5×10^5 个/mL,将 100 μ L 的细胞悬液加到 Transwell 上室中,在下室中加入 500 μ L 含有血清的培养液,将 Transwell 放到培养箱中培养 24 h,用棉签轻轻擦掉没有穿膜的细胞,采用多聚甲醛固定 20 min,结晶紫染色 30 min,倒置显微镜下观察穿过膜的细胞,即为迁移细胞数目。

侵袭实验:取出冷冻保存的 Matrigel 胶,过夜融化,将 Matrigel 胶按照 1:8 比例稀释,取 50 μ L 稀释液铺至 Transwell 上室底部,风干 5 h 至胶状,后续实验同迁移实验一致。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 21.0 统计学软件分析处理实验数据,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较用 *t* 检验,三组间比较用单因素方差分析。*P*<0.05 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨肉瘤组织中 CD44v6 表达水平

与癌旁组织相比,骨肉瘤组织中 CD44v6 mRNA 及蛋白表达水平升高,差异有统计学意义(*P*<0.05),见图 1 及表 1。

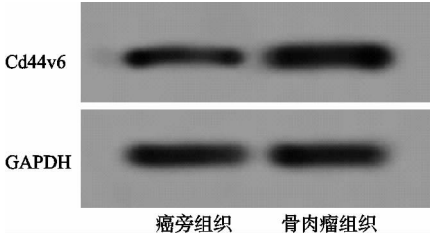


图 1 骨肉瘤组织中 CD44v6 蛋白表达水平

表 1 骨肉瘤组织中 CD44v6 表达水平(*n*=37, $\bar{x}\pm s$)

| 组别 | CD44v6 mRNA | CD44v6 蛋白 |
|----------|-------------------------|-------------------------|
| 癌旁组织 | 1.01±0.23 | 0.96±0.20 |
| 骨肉瘤组织 | 3.15±0.53 ¹⁾ | 2.46±0.30 ¹⁾ |
| <i>t</i> | 22.531 | 25.306 |
| <i>P</i> | <0.001 | <0.001 |

注:1)与癌旁组织比较,*P*<0.05。

2.2 骨肉瘤细胞 CD44v6 表达水平

与成骨细胞 hFOB1.19 相比,骨肉瘤细胞 U2OS、MG63 中 CD44v6 mRNA 及蛋白表达水平升高,差异有统计学意义(*P*<0.05),见图 2 及表 2。

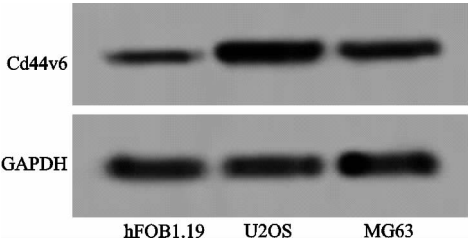


图 2 骨肉瘤细胞 CD44v6 蛋白表达水平

表 2 骨肉瘤细胞 CD44v6 表达水平($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | CD44v6 mRNA | CD44v6 蛋白 |
|----------|-------------------------|-------------------------|
| hFOB1.19 | 1.00±0.08 | 0.32±0.04 |
| U2OS | 3.59±0.33 ¹⁾ | 0.69±0.05 ¹⁾ |
| MG63 | 2.82±0.24 ¹⁾ | 0.52±0.04 ¹⁾ |
| <i>F</i> | 276.231 | 162.474 |
| <i>P</i> | <0.001 | <0.001 |

注:1)与 hFOB1.19 比较,*P*<0.05。

2.3 沉默 CD44v6 在骨肉瘤细胞中的表达

与 Control 组、si-NC 组相比,si-CD44v6 组骨肉瘤细胞 CD44v6 mRNA 及蛋白表达水平降低,差异有统计学意义(*P*<0.05),其中 Control 组、si-NC 组骨肉瘤细胞中 CD44v6 mRNA 及蛋白表达水平差异无统计学意义(*P*>0.05),见图 3 及表 3。

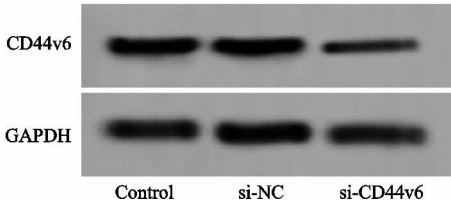


图 3 沉默 CD44v6 在骨肉瘤细胞中蛋白的表达

表 3 沉默 CD44v6 在骨肉瘤细胞中的表达($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | CD44v6 mRNA | CD44v6 蛋白 |
|-----------|---------------------------|---------------------------|
| Control | 0.98±0.07 | 0.72±0.05 |
| si-NC | 1.00±0.06 | 0.71±0.07 |
| si-CD44v6 | 0.35±0.04 ¹⁾²⁾ | 0.38±0.04 ¹⁾²⁾ |
| <i>F</i> | 365.257 | 112.300 |
| <i>P</i> | <0.001 | <0.001 |

注:1)与 Control 组比较,*P*<0.05;2)与 si-NC 组比较,*P*<0.05。

2.4 沉默 CD44v6 对骨肉瘤细胞增殖的影响

与 Control 组、si-NC 组相比,si-CD44v6 组骨肉瘤细胞 OD 值、PCNA、Ki67 蛋白表达水平降低,克隆细胞数目减少,差异有统计学意义(*P*<0.05),其中 Control 组、si-NC 组骨肉瘤细胞中 OD 值、PCNA 蛋白表达水平、Ki67 蛋白表达水平、克隆细胞数目差异无统计学意义,见图 4 及表 4。

2.5 沉默 CD44v6 对骨肉瘤细胞迁移、侵袭的影响

与 Control 组、si-NC 组相比,si-CD44v6 组骨肉瘤细胞迁移细胞数目、侵袭细胞数目减少,N-cadherin、MMP9 蛋白表达水平降低,E-cadherin 蛋白表达水平升高,差异有统计学意义(*P*<0.05),其中 Control 组、si-NC 组骨肉瘤细胞中迁移细胞数目、侵袭细胞数目、E-cadherin、N-cadherin、MMP9 蛋白表达水平差异不显著,见图 5 及表 5。

3 讨论

骨肉瘤具有较高恶性程度、侵袭性,极易在肺部发生转移,其次为脑部转移,现在治疗手段仍不能得到有

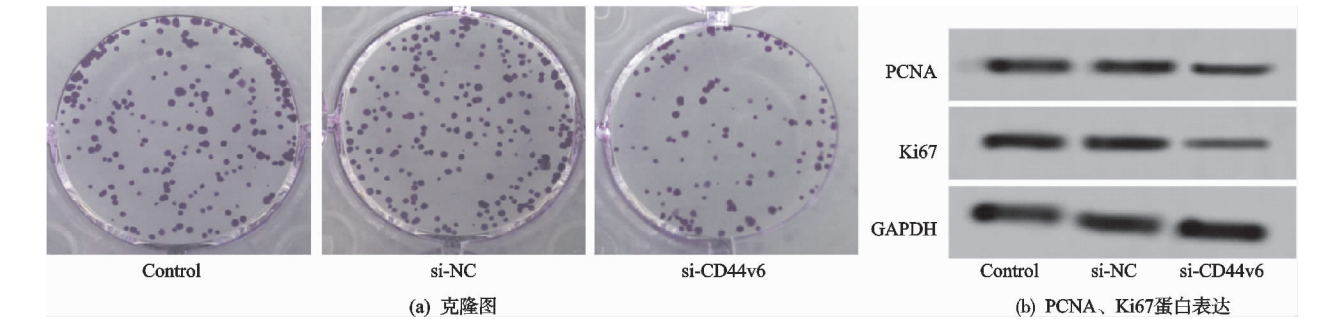


图 4 沉默 CD44v6 对骨肉瘤细胞增殖的影响

表 4 沉默 CD44v6 对骨肉瘤细胞增殖的影响(̄x±s)

| 组别 | OD 值 | | | 克隆细胞数目/个 | PCNA | Ki67 |
|-----------|-----------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | 24 h | 48 h | 72 h | | | |
| Control | 0.26±0.04 | 0.58±0.04 | 1.12±0.10 | 129.32±11.24 | 0.64±0.04 | 0.58±0.04 |
| si-NC | 0.28±0.03 | 0.56±0.05 | 1.09±0.07 | 126.72±12.59 | 0.65±0.07 | 0.55±0.06 |
| si-CD44v6 | 0.27±0.05 | 0.39±0.04 ¹⁾²⁾ | 0.67±0.05 ¹⁾²⁾ | 77.34±6.63 ¹⁾²⁾ | 0.30±0.04 ¹⁾²⁾ | 0.37±0.04 ¹⁾²⁾ |
| F | 0.540 | 51.632 | 98.224 | 70.443 | 132.333 | 51.221 |
| P | 0.590 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

注:1)与 Control 组比较,P<0.05;2)与 si-NC 组比较,P<0.05。

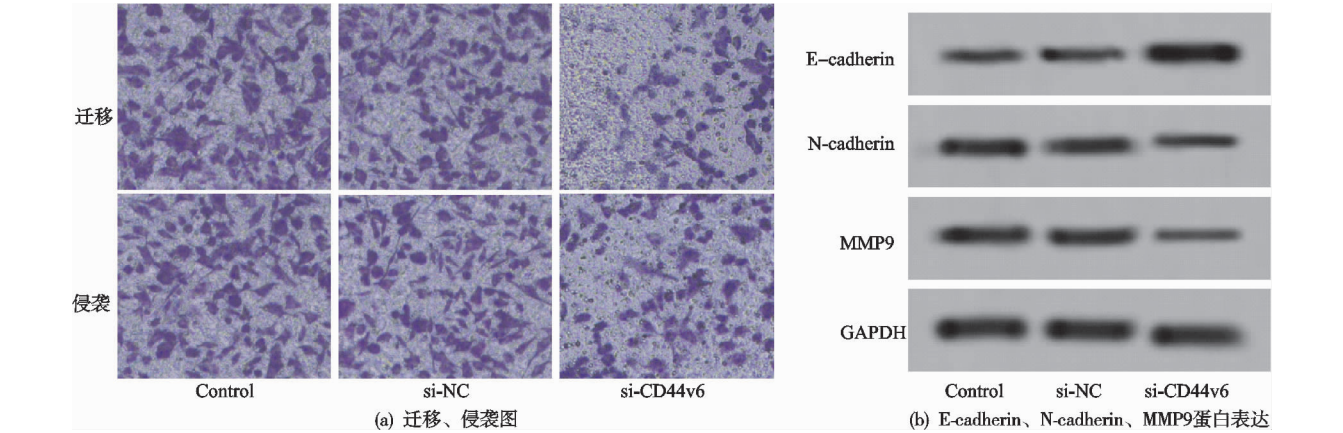


图 5 沉默 CD44v6 对骨肉瘤细胞迁移、侵袭的影响

表 5 沉默 CD44v6 对骨肉瘤细胞迁移、侵袭的影响(̄x±s)

| 组别 | 迁移细胞数目/个 | 侵袭细胞数目/个 | E-cadherin | N-cadherin | MMP9 |
|-----------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Control | 98.71±8.57 | 114.41±9.85 | 0.27±0.04 | 0.73±0.06 | 0.63±0.07 |
| si-NC | 95.38±9.12 | 116.12±10.43 | 0.29±0.03 | 0.75±0.07 | 0.64±0.06 |
| si-CD44v6 | 47.24±3.67 ¹⁾²⁾ | 55.35±5.02 ¹⁾²⁾ | 0.48±0.04 ¹⁾²⁾ | 0.40±0.04 ¹⁾²⁾ | 0.37±0.05 ¹⁾²⁾ |
| F | 131.695 | 139.943 | 88.463 | 103.277 | 57.518 |
| P | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

注:1)与 Control 组比较,P<0.05;2)与 si-NC 组比较,P<0.05。

效的治疗,这对青少年及儿童身体健康带来不利的影响^[8-9]。原发性骨肉瘤患者的手术切除预后生存率为 65%左右,但是若出现转移情况,生存率降低到 25%以下,骨肉瘤发病机制受到众多研究者的关注^[10]。

细胞黏附分子 CD44 主要位于细胞膜上,是一种跨膜糖蛋白,可以有选择地剪接形成成熟的 mRNA,CD44v6 是其中一个变异体,在人体组织内广泛表达,与癌细胞分化、转移能力有关^[11-13]。通过收集早期胃癌患者癌症组织,发现 CD44v6 高表达与淋巴结转移、肿瘤大小、组织学类型、淋巴管浸润等临床症状密切相关,功能实验显示 CD44v6 可促进胃癌细胞增殖、迁移

和侵袭^[14]。结直肠癌中 CD44v6 高表达,上调 CD44v6 可促进结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭能力^[15]。卵巢癌研究中,使用 RT-qPCR 和免疫组织化学发现 CD44v6 在恶性卵巢癌组织中高表达,沉默 CD44v6 通过激活 NF-κB 信号通路抑制卵巢癌细胞增殖、迁移和侵袭^[16]。还有研究发现,CD44v6 在儿童骨肉瘤患者组织中阳性率达到 68.00%,与骨肉瘤恶性进展密切相关^[17]。使用 qRT-PCR 和 Western Blot 检测骨肉瘤组织和细胞中表达情况,发现 CD44v6 mRNA 和蛋白表达在骨肉瘤组织中高表达,且高水平表达情况与患者年龄、性别无关,但是与患者临床分期

及远处转移密切相关;在骨肉瘤细胞中 CD44v6 mRNA及蛋白表达水平也明显升高。利用干扰技术将 si-CD44v6 转染骨肉瘤细胞内,CD44v6 mRNA 和蛋白表达降低,以上均说明 CD44v6 与骨肉瘤发病有关,有望成为骨肉瘤潜在生物标志物。沉默 CD44v6 减少骨肉瘤细胞中克隆细胞数目、迁移细胞数目、侵袭细胞数目,OD 值也降低,提示沉默 CD44v6 可抑制骨肉瘤细胞增殖、迁移、侵袭。

癌细胞恶性增殖对癌症治疗带来不利的影响,PCNA 是真核细胞 DNA 合成所必需的一种核蛋白,能直接参与 DNA 复制,与细胞增殖启动有关,Ki67 是一种细胞增殖的相关抗原,可以用来反映细胞增殖活性、细胞周期等^[18]。肿瘤恶性转移是癌症治疗失败的主要原因,上皮间质转化过程是胚胎发育的过程,也是肿瘤侵袭和转移的起始原因,E-cadherin、N-cadherin 是上皮间质转化的标记蛋白^[19-20]。MMP9 属于基质蛋白酶家族成员,不仅能降解细胞外基质,还与肿瘤细胞转移有关^[21]。本研究结果显示,si-CD44v6 转染骨肉瘤细胞后,PCNA、Ki67、N-cadherin、MMP9 蛋白表达降低,E-cadherin 蛋白表达上调,提示沉默 CD44v6 抑制骨肉瘤细胞增殖和转移,可能与 PCNA、Ki67、N-cadherin、MMP9 蛋白表达下调及 E-cadherin 蛋白表达上调有关。

综上所述,CD44v6 在骨肉瘤组织和细胞中表达上调,沉默 CD44v6 能抑制骨肉瘤细胞增殖和转移能力,这为骨肉瘤早期诊断和治疗提供了数据支撑,关于 CD44v6 对下游可能相关的信号转导途径需要进一步进行实验探究。

参考文献

- [1] CORRE I, VERRECCHIA F, CRENN V, et al. The osteosarcoma microenvironment; a complex but targetable ecosystem[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 976.
- [2] KAGER L, TAMAMYAN G, BIELACK S. Novel insights and therapeutic interventions for pediatric osteosarcoma[J]. *Future Oncol*, 2017, 13(4): 357-368.
- [3] HARRISON D J, GELLER D S, GILL J D, et al. Current and future therapeutic approaches for osteosarcoma[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2018, 18(1): 39-50.
- [4] SPIEGELBERG D, NILVEBRANT J. CD44v6-targeted imaging of head and neck squamous cell carcinoma: Antibody-based approaches[J]. *Contrast Media Mol Imaging*, 2017: 2709547.
- [5] NICOLAZZO C, LORENI F, CAPONNETTO S, et al. Baseline CD44v6-positive circulating tumor cells to predict first-line treatment failure in patients with metastatic colorectal cancer [J]. *Oncotarget*, 2020, 11 (45): 4115-4122.
- [6] 龙佑梅, 黄梨, 王艳清, 等. CD44v6 通过 ERK 途径促进子宫内腺癌的增殖和转移[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2020, 12(7): 76-79.
- [7] DENG Z, NIU G, CAI L, et al. The prognostic significance

- of CD44v6, CDH11, and β -catenin expression in patients with osteosarcoma[J]. *Biomed Res Int*, 2013: 496193.
- [8] FLESNER B K, WOOD G W, GAYHEART-WALSTEN P, et al. Autologous cancer cell vaccination, adoptive T-cell transfer, and interleukin-2 administration results in long-term survival for companion dogs with osteosarcoma[J]. *J Vet Intern Med*, 2020, 34(5): 2056-2067.
- [9] HANSEN S A, HART M L, BUSI S, et al. Fischer-344 Tp53-knockout rats exhibit a high rate of bone and brain neoplasia with frequent metastasis[J]. *Dis Model Mech*, 2016, 9(10): 1139-1146.
- [10] BIN ALAMER O, HAIDER A S, HAIDER M, et al. Primary and radiation induced skull base osteosarcoma; a systematic review of clinical features and treatment outcomes[J]. *J Neurooncol*, 2021, 153(2): 183-202.
- [11] MA L, DONG L, CHANG P. CD44v6 engages in colorectal cancer progression[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(1): 30.
- [12] CHUNG S Y, HUANG W C, CHEN Z S, et al. Elucidation of the mechanism underlying CD44v6-induced transformation of IEC-6 normal intestinal epithelial cells[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(1): 194-209.
- [13] HU S, CAO M, HE Y, et al. CD44v6 targeted by miR-193b-5p in the coding region modulates themigration and invasion of breast cancer cells[J]. *J Cancer*, 2020, 11(1): 260-271.
- [14] EOM B W, JOO J, PARK B, J et al. Nomogram incorporating CD44v6 and clinicopathological factors to predict lymph node metastasis for early gastric cancer[J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0159424.
- [15] 吕林, 刘海光, 张筱骅. 过表达 CD44v6 基因对人大肠癌 SW480 细胞侵袭迁移能力的影响[J]. *世界华人消化杂志*, 2016, 24(8): 1175-1183.
- [16] WANG Y, YANG X, XIAN S, et al. CD44v6 may influence ovarian cancer cell invasion and migration by regulating the NF- κ B pathway[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(1): 298-306.
- [17] 桂容花, 徐洪涛, 董贺龙, 等. Dishevelled-1、Cyclin D1 和 CD44v6 在儿童骨肉瘤中的表达及临床意义[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2016, 21(9): 785-788.
- [18] QIU X, WANG H, WANG Z, et al. Expression of PCNA, Ki-67 and COX-2 in breast cancer based on DCE-MRI image information[J]. *J Infect Public Health*, 2020, 13(12): 2032-2037.
- [19] CANEVER H, CAROLLO P S, FLEURISSEON R, et al. Molecular tension microscopy of E-cadherin during epithelial-mesenchymal transition [J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2179: 289-299.
- [20] VAN STEGEN B, DAGAR S, GOTTMANN K. Release activity-dependent control of vesicle endocytosis by the synaptic adhesion molecule N-cadherin[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40865.
- [21] HUANG H. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a cancer biomarker and MMP-9 biosensors; recent advances[J]. *Sensors (Basel)*, 2018, 18(10): 3249.

(收稿日期: 2021-11-10)