

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.16.003

文章编号: 1005-8982(2016)16-0012-06

论著

RNAi 沉默 *c-Met* 基因对人脑胶质瘤 U251 细胞增殖及侵袭能力的影响

段韬¹, 顾应江², 张彪³

(1. 四川省宜宾市第一人民医院 神经外科, 四川 宜宾 644000; 2. 西南医科大学附属中医院 神经外科, 四川 泸州 646000; 3. 重庆医科大学附属第一医院 神经外科, 重庆 402360)

摘要: **目的** 探讨 RNAi 沉默 *c-Met* 基因对人脑胶质瘤 U251 细胞增殖及侵袭能力的影响。**方法** 分别构建 3 种靶向 *c-Met* 基因的短发卡 RNA (shRNA) 序列, 以脂质体转染的方式导入人脑胶质瘤 U251 细胞, 并筛选出稳定表达的细胞株。采用 PCR 和 Western blot 检测 *c-Met*-shRNA 转染后 U251 细胞 *c-Met* 的表达情况, 以筛选出可有效沉默 *c-Met* 基因的 shRNA。*c-Met* 基因沉默后, 采用 MTT 法和流式细胞术检测 U251 细胞增殖情况, 采用 Transwell 法和细胞划痕实验检测 U251 细胞侵袭和迁移情况, 采用裸鼠荷瘤实验研究 U251 细胞体内成瘤性。**结果** 成功构建可有效沉默 *c-Met* 基因的 *c-Met*-shRNA1。*c-Met* 沉默后, *c-Met* mRNA 以及蛋白的表达均显著下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而且可明显抑制 U251 细胞的增殖、侵袭、迁移以及体内成瘤能力, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** RNAi 沉默 *c-Met* 基因可有效抑制人脑胶质瘤 U251 细胞的增殖、侵袭、迁移以及体内成瘤能力。

关键词: RNAi 沉默; *c-Met*; 人脑胶质瘤 U251 细胞

中图分类号: R-332; R739.41

文献标识码: A

Effect of RNAi silencing *c-Met* gene on proliferation and invasion ability of human glioma U251 cell

Tao Duan¹, Ying-jiang Gu², Biao Zhang³

(1. Department of Neurosurgery, the First People's Hospital of Yibin, Yibin, Sichuan 644000, China; 2. Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 3. Department of Neurosurgery, the First Affiliated Dazu Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 402360, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of RNAi silencing *c-Met* gene on the proliferation and invasion ability of human glioma U251 cell. **Methods** Three kinds of short hairpin RNA (shRNA) targeting *c-Met* gene were constructed. All of the shRNAs were transfected into U251 cell by liposome transfection, in order to screen out the stable expression cell line. The expression of *c-Met* in U251 cell was detected by PCR and Western Blot, in order to screen out the effective shRNA. The proliferation of U251 cell was detected by MTT assay and flow cytometry. The invasion and migration of U251 cell was detected by transwell assay and cell scratch. **Results** The shRNA targeting *c-Met* gene was successful constructed. The expression of *c-Met* was significantly decreased after *c-Met* gene was silenced, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The proliferation, invasion, migration and tumorigenicity of U251 cell was inhibited after silencing *c-Met* gene, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusions** RNAi silencing *c-Met* gene can effectively inhibit the proliferation, invasion, migration and tumorigenicity of human glioma U251 cell.

Keywords: RNAi silencing; *c-Met*; human glioma cell U251

收稿日期: 2015-11-12

[通信作者] 顾应江, E-mail: asdd1688@126.com; Tel: 15883048550

人脑胶质细胞瘤是中枢神经系统原发性肿瘤,约占全部中枢神经系统原发性肿瘤的 32%,约占中枢神经系统高度恶性肿瘤的 81%^[1-2]。脑胶质细胞瘤的预后极差,患者 5 年存活率仅为 20%~30%,高度恶性胶质瘤患者的存活期仅为 9~12 个月^[3]。高度恶性胶质瘤难以治疗的主要原因是由于其所具有的过度增殖、抗凋亡以及较强的侵袭、迁移能力等恶性生物学行为^[4]。研究发现,*c-Met* 基因编码的产物在人脑胶质细胞瘤中高表达,与肿瘤的增殖和侵袭等恶性生物学行为密切相关^[5-6]。因此,本研究采用 RNAi 技术沉默人脑胶质瘤 U251 细胞 *c-Met* 基因的表达,以探讨沉默 *c-Met* 基因对人脑胶质瘤 U251 细胞增殖及侵袭能力的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人脑胶质瘤 U251 细胞(中国科学院上海细胞库),RPMI 1640 培养基、胎牛血清(Gibco,美国);胰蛋白酶(Invitrogen,美国),*EcoR* I 和 *Xho* I 限制性内切酶、T4 DNA 连接酶(New England Biolabs 公司,英国),Opti-MEM 培养基和 Lipofectamine 2000(Invitrogen,美国),Trizol(Invitrogen 公司,美国),逆转录试剂盒(ABI Applied Biosystems 公司,美国),PCR 试剂盒(TaKaRa 公司,日本);BALB/C-nu/nu 裸鼠(上海斯莱克实验动物有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养传代 人脑胶质瘤 U251 细胞接种于含 10% FBS、100 IU/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 RPMI 1640 培养基,37℃,5%二氧化碳培养箱中培养。细胞融合到 85%左右时,用 0.25%胰酶消化、传代。

1.2.2 靶向 *c-Met* shRNA 构建 根据 *c-Met* 基因信息,由上海吉玛制药技术有限公司设计并合成 3 条短发夹 RNA (small hairpin RNA,shRNA),分别为 *c-Met*-shRNA1、*c-Met*-shRNA2 和 *c-Met*-shRNA3 (内含限制性内切酶 *EcoR* I 和 *Xho* I 的酶切位点),Blast 比对与人类其他基因编码序列无同源性。退火形成双链 DNA,经 T4 DNA 连接酶与经过 *EcoR* I 和 *Xho* I 酶切后的 pGPU6/GFP/Neo 载体连接,以构建干扰 *c-Met* 表达的重组质粒。*c-Met*-shRNA 重组质粒转化感受态 DH5α 大肠杆菌,并转移至含氨苄霉素抗性的琼脂培养基上培养,采用蓝白斑法筛选阳性克隆并送呈上海吉玛制药技术有限公司测序。见

表 1。

1.2.3 靶向 *c-Met*-shRNA 细胞转染 人脑胶质瘤 U251 细胞接种于 6 孔板,每孔细胞 1×10^5 ,融合达到 70%时,随机分为 5 组开始转染实验。A 液:1 μg *c-Met*-shRNA 用 50 μl OPTI-MEM 稀释,静置 10 min。B 液:2 μl Lipofectamine 2000 用 50 μl OPTI-MEM 稀释,静置 10 min。混合 A、B 液,静置 20 min。取出培养的 U251 细胞,弃去原培养液并用无血清培养液漂洗,再加入 1 ml 无血清培养液和 A/B 混合液,孵育 6 h。6 h 后弃去转染液,更换为完全培养基。培养 72 h 后,观察细胞转染情况。

1.2.4 PCR 检测 *c-Met* 表达 转染 72 h 后,Trizol 法提取细胞总 RNA,逆转录成 cDNA。采用 Primer 5.0 软件,参照文献^[7],设计 *c-Met* 和 *G3PDH* 引物,由上海吉玛制药技术有限公司提供。*c-Met* 正向:5'-ACAGTGGCATGTCAACATCGCT-3',*c-Met* 反向:5'-GCTCGGTAGTCTACAGATTC-3',656 bp。*G3PDH* 正向:5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3',反向:5'-TCCACCACCCTGTTGCTG-3',1 000 bp。PCR 反应条件:首先,95℃预变性 10 min;紧接着,95℃变性 30 s,55℃退火 1 min,68℃延伸 1 min,共 24 个循环;最后,68℃延伸 10 min。产品经 1.5%琼脂糖凝胶电泳,Gene Tools 软件分析。

1.2.5 Western blot 检测 *c-Met* 蛋白表达 转染 72 h 后,收集细胞,PBS 淋洗,置于冰浴,加入 RIPA 裂解液裂解 30 min,刮离细胞转移至离心管,4℃,12 000 r/min 离心 5 min,取上清置入 -20℃冰箱保存备用。样品蛋白经二喹啉甲酸蛋白分析试剂盒定量,置入 -20℃冰箱冷冻保存备用。50 μg 总蛋白上样,经 10% SDS-PAGE 电泳分离,转至硝酸纤维素膜;TBST 淋洗 3 × 10 min,5%脱脂奶粉室温封闭 1 h;加入 *c-Met* 一抗,4℃孵育过夜;TBST 淋洗 3 × 10 min,加入 HRP 标记的兔抗鼠二抗,37℃孵育 1 h;TBST 淋洗 3 × 10 min,DAB 显色。

1.2.6 MTT 检测 U251 细胞增殖能力 人脑胶质瘤 U251 细胞,以 1×10^4 孔的密度接种于 24 孔板培

表 1 *c-Met*-shRNA 序列

名称	shRNA(5'-3')
<i>c-Met</i> -shRNA1	AGAATGTCATTCTACATGAGC
<i>c-Met</i> -shRNA2	ATGTGAACGCTACTTATGTGC
<i>c-Met</i> -shRNA3	ATCAGAACCAGAGGCTTGGTC
negative control	AGCTGACCCCTGAAGTTCATCT

养。24 h 后,每孔加入 200 μ l 的 5 mg/ μ l 的 MTT 的 PBS 溶液,37℃,5%二氧化碳孵育。4 h 后,每孔加入 100 μ l 的二甲基亚砜,室温慢速振摇 15 min,以充分溶解结晶。酶标仪 560 nm 测定各组的光密度值 (optical density, OD) 并绘制曲线。

1.2.7 Transwell 检测 U251 细胞侵袭能力 以 1×10^5 /L 的密度将细胞接种于自带基质胶的 Transwell 小室上室,每室 200 μ l; Transwell 小室下室加入 600 μ l 含 10% FBS、100 IU/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 RPMI 1640 培养基;37℃,5%二氧化碳孵育 12 h,棉签擦去靠近基底膜内室的细胞,另一面的细胞经 10% 甲醇固定 30 min, PBS 洗涤 1 次,结晶紫染色 20 min, PBS 洗涤 1 次,显微镜下观察细胞并计数。

1.2.8 细胞划痕实验检测 U251 细胞迁移能力 采用单层细胞划痕实验检测 U251 细胞迁移能力。以 2×10^5 的密度将细胞接种于 6 孔板,融合达 90% 时,在培养板内侧底部沿直线划痕,继续孵育 24 h。24 h 后观察细胞划痕愈合情况。迁移能力 = 0 h 划痕距离 - 24 h 划痕距离。

1.2.9 裸鼠体内荷瘤实验 收集培养的 U251 细胞,经生理盐水重悬;裸鼠腹部常规消毒后,皮下注射 0.5 ml 重悬的 U251 细胞;每 5 d 观察移植瘤的生长情况,并测量瘤体大小。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,计量资

料用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较用 t 检验,多组间比较先用 One-Way ANOVA 方差分析,再用 SNK 检验进行组内两两比较;计数资料用率 (%) 表示,采用 χ^2 检验。取双侧 $\alpha=0.05$ 为检测水准, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

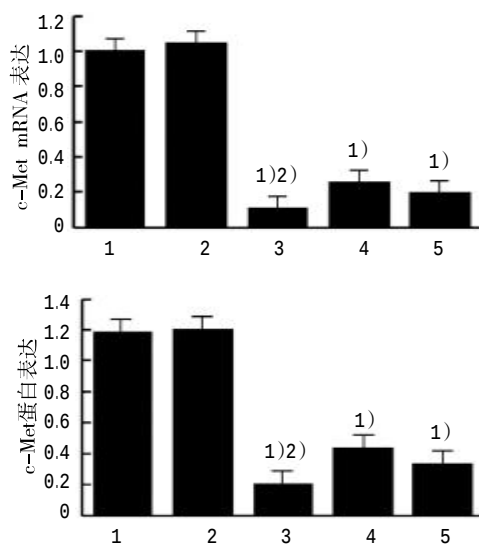
2 结果

2.1 靶向 c-Met-shRNA 构建

构建的重组质粒 c-Met-shRNA1, c-Met-shRNA2 和 c-Met-shRNA3 经上海吉玛制药技术有限公司测试证实构建成功。

2.2 靶向 c-Met-shRNA 转染筛选

各组转染效率分别为:未转染组 0.0%,空质粒组 75.3%, c-Met-shRNA1 组 85.8%; c-Met-shRNA2 组 71.2%, c-Met-shRNA3 组 67.4%,提示 c-Met-shRNA3 的转染效率最高,可用于后续实验。PCR 检测显示,各转染组细胞 c-Met mRNA 表达均显著低于未转染组和空质粒组, c-Met-shRNA1 组 (0.11 ± 0.02) 较 c-Met-shRNA2 组 (0.26 ± 0.05) 和 c-Met-shRNA3 组 (0.20 ± 0.03) 明显降低,差异有统计学意义 ($F=13.500, P < 0.05; q=7.300, P < 0.05; q=4.380, P < 0.05$)。Western blot 检测显示,各转染组细胞 c-Met 蛋白表达均显著低于未转染组和空质粒组,且 c-Met-shRNA1 组 (0.21 ± 0.05) 较 c-Met-shRNA2 组 (0.44 ± 0.07) 和 c-Met-shRNA3 组 (0.34 ± 0.06) 明显降低,差异有统计学意义 ($F=10.882, P < 0.05; q=6.579, P < 0.05; q=3.719, P < 0.05$)。提示 c-Met-shRNA



1: 未转染组; 2: 空质粒组; 3: c-Met-shRNA1 组; 4: c-Met-shRNA2 组; 5: c-Met-shRNA3 组。1) 与未转染组和空质粒组比较, $P < 0.05$; 2) 与 c-Met-shRNA2 组和 c-Met-shRNA3 组比较, $P < 0.05$

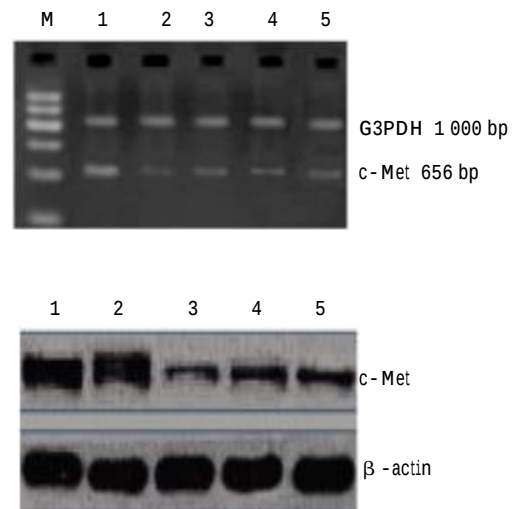


图 1 PCR 和 Western blot 检测 C-Met 基因 mRNA 和蛋白质的相对表达

可沉默人脑胶质瘤 U251 细胞 *c-Met* 基因和蛋白的表达,且以 *c-Met*-shRNA1 的沉默效果最好。见图 1。

2.3 U251 细胞增殖能力的影响

MTT 检测结果显示,从第 24 h 开始,*c-Met*-shRNA1 组 OD 值 (0.21 ± 0.02) 明显低于未转染组 (0.33 ± 0.03) 和空质粒组 (0.32 ± 0.03),差异有统计学意义 ($F=18.136, P<0.05; q=7.675, P<0.05; q=7.036, P<0.05$)。 *c-Met*-shRNA1 组第 36 h ($F=46.610, P<0.05; q=10.776, P<0.05; q=12.650, P<0.05$), 48 h ($F=169.463, P<0.05; q=23.426, P<0.05; q=21.552, P<0.05$) 和 72 h ($F=229.188, P<0.05; q=25.548, P<0.05; q=26.847, P<0.05$) 的 OD 值均显著低于未转染组和空质粒组。见图 2 和表 2。

流式细胞术测定细胞周期显示,*c-Met*-shRNA1 组 G_1 期细胞比例 (68.33%) 显著高于未转染组 (55.15%) 和空质粒组 (56.71%),差异有统计学意义 ($\chi^2=40.833, P<0.05$);而 *c-Met*-shRNA1 组 S 期细胞比例 (10.85%) 显著高于未转染组 (30.62%) 和空质粒组 (31.53%),差异有统计学意义 ($\chi^2=16.764, P<0.05$),见图 3。提示 RNAi 沉默 *c-Met* 基因可显著抑制人脑胶质瘤 U251 细胞的增殖。

2.4 U251 细胞侵袭迁移能力的影响

Transwell 检测显示,*c-Met*-shRNA1 组穿膜细胞数目 (10.98 ± 3.21) 显著低于未转染组 (34.53 ± 4.31) 和空质粒组 (33.79 ± 4.27),差异有统计学意义 ($F=34.240, P<0.05; q=10.293, P<0.05; q=9.970, P<$

0.05),见图 4。提示 RNAi 沉默 *c-Met* 基因导致人脑胶质瘤 U251 细胞的侵袭能力下降

细胞划痕实验显示,*c-Met*-shRNA1 组细胞迁移距离显著低于未转染组和空白质粒组,差异有统计学意义 ($F=27.131, P<0.05; q=9.312, P<0.05; q=8.903, P<0.05$),见图 5。提示 RNAi 沉默 *c-Met* 基因导致人脑胶质瘤 U251 细胞的迁移能力下降。

2.5 对裸鼠体内成瘤的影响

裸鼠体内荷瘤实验显示,接种转染组和空质粒组细胞的裸鼠,10 d 左右即形成明显可见的肿瘤结节;而接种 *c-Met*-shRNA1 转染细胞的裸鼠在 15 d 左右才形成肿瘤结节。肿瘤生长曲线显示,*c-Met*-shRNA1 组裸鼠肿瘤体积接种后的 10 d ($F=7.010, P<0.05; q=4.511, P<0.05; q=4.657, P<0.05$), 15 d ($F=7.749, P<0.05; q=4.767, P<0.05; q=4.874, P<0.05$), 20 d ($F=6.343, P<0.05; q=4.361, P<0.05; q=$

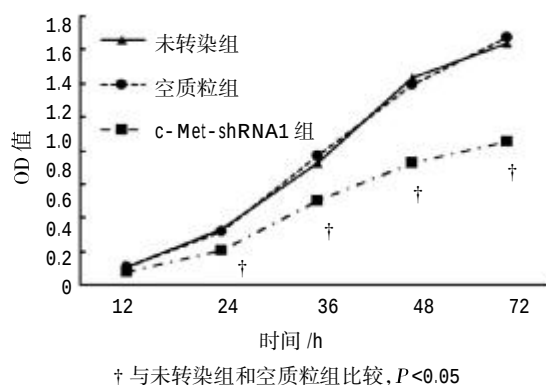


图 2 MTT 检测 *c-Met*-shRNA1 对 U251 细胞增殖的影响

表 2 各组不同时间点 OD 值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	12 h	24 h	36 h	48 h	72 h
未转染组	0.11 ± 0.02	0.33 ± 0.03	0.73 ± 0.04	1.23 ± 0.04	1.44 ± 0.04
空质粒组	0.11 ± 0.01	0.32 ± 0.03	0.77 ± 0.04	1.19 ± 0.04	1.47 ± 0.04
<i>c-Met</i> -shRNA1 组	0.08 ± 0.01	$0.21 \pm 0.02^\dagger$	$0.50 \pm 0.03^\dagger$	$0.73 \pm 0.03^\dagger$	$0.85 \pm 0.04^\dagger$

注:† 与同一时期的未转染组和空质粒组比较, $P<0.05$

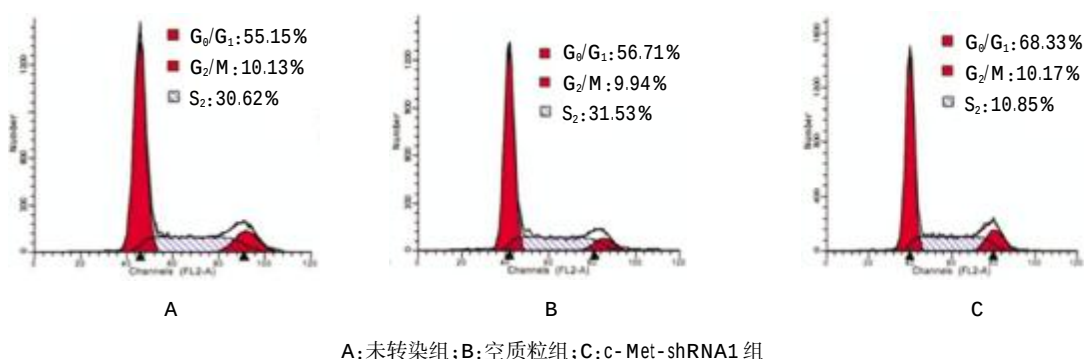


图 3 流式细胞术检测 *c-Met*-shRNA1 对 U251 细胞周期的影响

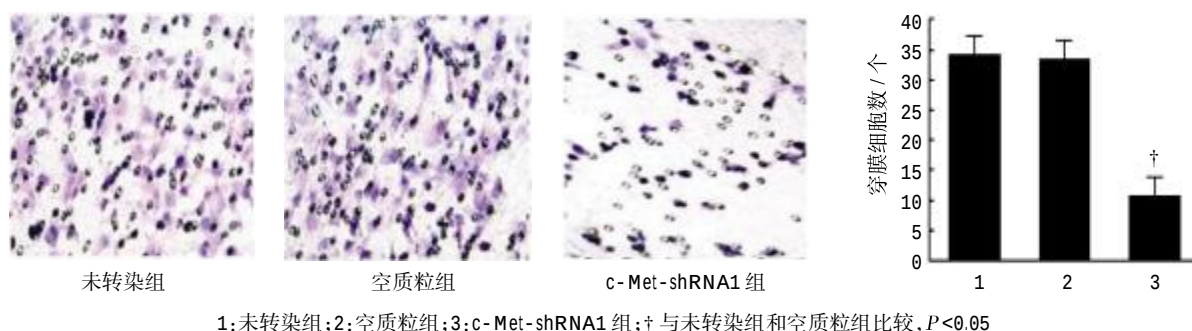


图 4 Transwell 检测 c-Met-shRNA1 对 U251 细胞侵袭能力的影响 ($\times 400$)

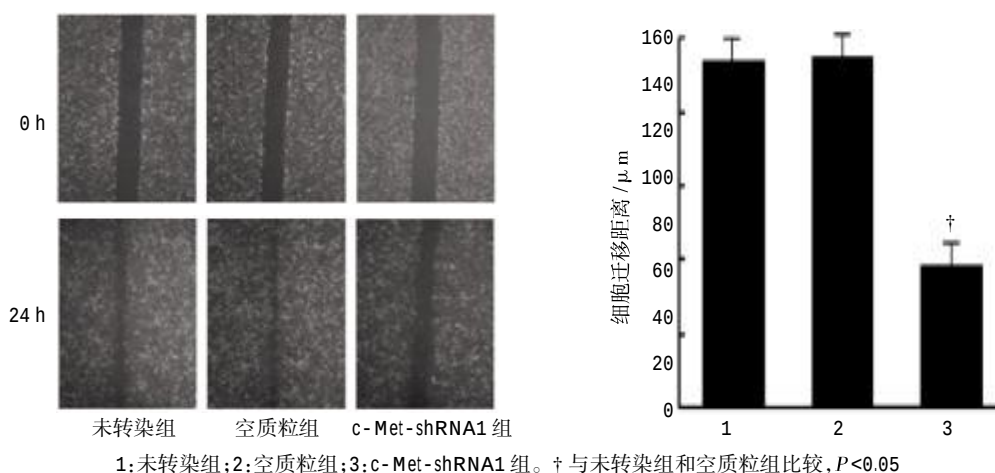


图 5 细胞划痕实验检测 c-Met-shRNA1 对 U251 细胞迁移能力的影响 ($\times 100$)

4.364, $P < 0.05$)、25 d ($F = 6.268$, $P < 0.05$; $q = 4.316$, $P < 0.05$; $q = 4.356$, $P < 0.05$)和 30 d ($F = 6.987$, $P < 0.05$; $q = 4.739$, $P < 0.05$; $q = 4.398$, $P < 0.05$), 明显小于同一时段的未转染组和空质粒组。见图 6。

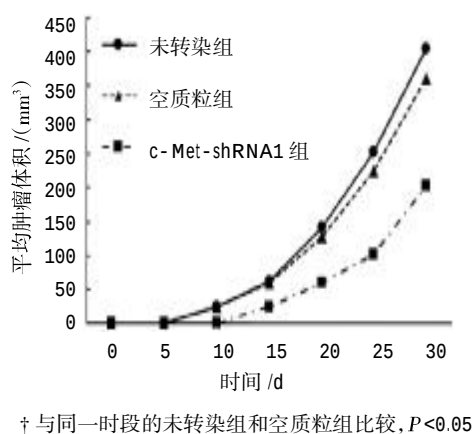


图 6 裸鼠体内成瘤生长情况

3 讨论

由于人脑胶质瘤的恶性度高、预后差和死亡率高,因此,有效的诊断和治疗对于延缓患者生命具有

重要意义。大量研究证实, *c-Met* 基因编码的蛋白在人脑胶质细胞瘤中高表达,与脑胶质瘤的恶性生物学行为密切相关,也是影响临床治疗效果的主要因素^[8]。*c-Met* 基因位于人类第七号染色体 7q31,其编码的产物蛋白是酪氨酸激酶受体 (receptor tyrosine kinase, RTKs) 家族成员之一,可以特异性识别并结合肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)^[9]。HGF 是由间质细胞分泌的,研究发现它有促进多种上皮细胞 (包括肾小管细胞、肠道上皮细胞、乳腺上皮细胞和支气管上皮细胞等) 以及间质细胞增殖和形态发生的功能,故而在胚胎发育、组织分化和促进伤口愈合方面发挥重要作用^[10-11]。然而在恶性肿瘤中, HGF 与 *c-Met* 基因编码的酪氨酸激酶受体特异性结合后,会引起 *c-Met* 酪氨酸自身磷酸化,激活 *c-Met* 受体酪氨酸激酶活性,并且为下游信号分子提供磷酸化区域,包括生长因子受体结合蛋白 2 (growth factor receptor bound protein-2, Grb-2), 信号传导和转录激活子 3 (signal transducer and activator of transcription-3, STAT-3), 以及 P85- 磷脂酰肌醇 -3 激酶 (P85-PI3 kinase, P85-PI3K) 等, 该信

号分子进一步诱发一系列信号传导通路,最终传至细胞核内,介导 *c-Met* 基因激活导致的脑胶质瘤细胞的增殖、侵袭和迁移等生物学行为^[12-13]。有研究证实,HGF/*c-Met* 信号通路,通过上调肿瘤细胞中的纤溶酶原激活因子抑制因子1和尿激酶型纤溶酶原激活物等促进肿瘤细胞的侵袭和迁移^[14]。CHU 等^[15-16]通过构建 shRNA 干扰脑胶质瘤 U251 细胞,下调 *c-Met* 蛋白表达,可减慢甚至停止细胞的增殖周期,增加细胞凋亡,抑制机体对 HGF 刺激的反应,提示或可通过特异性抑制 HGF/*c-Met* 信号通路达到治疗脑胶质细胞瘤的目的。为了探讨 *c-Met* 基因对脑胶质瘤 U251 细胞生物学行为的影响,本实验首先构建了靶向 *c-Met* 基因的 shRNA,并转染 U251 细胞,继而以 PCR 和 Western blot 法筛选出可有效沉默 *c-Met* 基因的 shRNA 进行后续实验。实验中 shRNA 干扰下调 U251 细胞中 *c-Met* 的表达,进一步研究观察 U251 细胞增殖、侵袭和迁移能力以及体内成瘤能力的变化。MTT 和流式细胞术结果显示,下调 *c-Met* 后 U251 细胞的增殖受到明显抑制;Transwell 和细胞划痕实验显示下调 *c-Met* 明显抑制 U251 细胞侵袭和迁移能力;裸鼠体内荷瘤实验显示,下调 *c-Met* 后,U251 细胞体内成瘤能力受到抑制。综上所述,RNAi 沉默 *c-Met* 基因可有效抑制人脑胶质瘤 U251 细胞的增殖、侵袭、迁移以及体内成瘤能力。

参 考 文 献:

- [1] OSTRUM Q T, GITTLEMAN H, STETSON L, et al. Epidemiology of gliomas[J]. Cancer Treat Res, 2015, 163: 1-14.
- [2] MOROKOFF A, NG W, GOGOS A, et al. Molecular subtypes, stem cells and heterogeneity: Implications for personalised therapy in glioma[J]. J Clin Neurosci, 2015, 22(8): 1219-1226.
- [3] BOELE F W, ROONEY A G, GRANT R, et al. Psychiatric symptoms in glioma patients: from diagnosis to management[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2015, 11:1413-1420.
- [4] PITSKHELAURI DI, BYKANOV AE, ZHUKOV VY, et al. Review of surgical treatment of insular gliomas: challenges and opportunities[J]. Zh Vopr Neurokhir Im N N Burdenko, 2015, 79(2): 111-116.
- [5] PETTERSON S A, DAHLROT R H, HERMANSEN S K, et al. High levels of c-Met is associated with poor prognosis in glioblastoma[J]. J Neurooncol, 2001, 122(3): 517-527.
- [6] RATH P, LAL B, AJALA O, et al. In vivo c-Met pathway inhibition depletes human glioma xenografts of tumor-propagating stem-like cells[J]. Transl Oncol, 2013, 6(2): 104-111.
- [7] KAORI K, MAKOTO H, FUMIAKI K. Association of c-Met phosphorylation with micropapillary pattern and small cluster invasion in pT1-size lung adenocarcinoma[J]. Lung Cancer, 2013, 82(3): 413-419.
- [8] MORIYAMA T, KATAOKA H, KOONO M, et al. Expression of hepatocyte growth factor/scatter factor and its receptor c-Met in brain tumors: evidence for a role in progression of astrocytic tumors[J]. Int J Mol Med, 1999, 3(5): 531-536.
- [9] GOYAL L, MUZUMDAR M D, ZHU A X. Targeting the HGF/c-MET pathway in hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(9): 2310-2318.
- [10] JIANG X, MCCLELLAN S A, BARRETT R, et al. HGF signaling impacts severity of pseudomonas aeruginosa keratitis [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(4): 2180-2290.
- [11] CHEN W, WU J, SHI H, et al. Hepatic stellate cell coculture enables sorafenib resistance in Huh7 cells through HGF/c-Met/Akt and Jak2/Stat3 pathways[J]. Biomed Res Int. 2014, doi: 10.1155/2014/764981.
- [12] CIAMPORCERO E, MILES K M, ADELAIYE R, et al. Combination strategy targeting VEGF and HGF/c-met in human renal cell carcinoma models[J]. Mol Cancer Ther, 2015, 14(1): 101-110.
- [13] HAO N B, TANG B, WANG G Z, et al. Hepatocyte growth factor (HGF) upregulates heparanase expression via the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway for gastric cancer metastasis[J]. Cancer Lett, 2015, 361(1): 57-66.
- [14] ITO Y, CORRELL K, ZEMANS R L, et al. Influenza induces IL-8 and GM-CSF secretion by human alveolar epithelial cells through HGF/c-Met and TGF- α /EGFR signaling [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2015, 308(11): L1178-1188.
- [15] CHU S H, MA Y B, ZHU Z A, et al. Radiation-enhanced hepatocyte growth factor secretion in malignant glioma cell lines[J]. Surg Neurol, 68(6): 610-613.
- [16] CHU S H, FENG D F, ZHANG H, et al. c-Met-targeted RNA interference inhibits growth and metastasis of glioma U251 cells in vitro[J]. J Neurooncol, 2009, 93(2): 183-189.

(张蕾 编辑)