

## 基于 FAK-F-actin 通路探讨岩藻糖基转移酶 8 对泡沫细胞运动能力的影响

陈林木<sup>1,2</sup>, 黄云秀<sup>3</sup>, 李运景<sup>2</sup>, 郭军<sup>1</sup>

(1. 暨南大学附属第一医院心血管内科, 广东省广州市 510006; 2. 中山市人民医院临床药学科, 3. 中山市人民医院检验医学中心, 广东省中山市 528403)

[关键词] 泡沫细胞; 岩藻糖基转移酶 8; 局部黏着斑激酶; 纤维型肌动蛋白; 细胞运动能力

[摘要] 目的 探讨岩藻糖基转移酶 8(Fut8)表达下调对泡沫细胞运动能力的影响及机制。方法 建立泡沫细胞模型,检测 Fut8 表达的改变,并明确其与泡沫细胞运动能力之间的直接联系。检测 Fut8 过表达对细胞内纤维型肌动蛋白(F-actin)形成的影响及其上游分子局部黏着斑激酶(FAK)的活化情况。结果 泡沫细胞形成过程中, Fut8 的表达明显下调,而过表达 Fut8 能修复泡沫细胞受损的运动能力。F-actin 的表达随着泡沫细胞运动能力下降而明显下调,且受到 Fut8 的调节。FAK 的磷酸化在 Fut8 表达下调时受到明显抑制,过表达 Fut8 能导致 FAK 的磷酸化明显增强。结论 Fut8-FAK-F-actin 通路受到抑制可能是泡沫细胞运动能力减弱的原因之一。

[中图分类号] R543.5

[文献标识码] A

### Effect of fucosyltransferase 8 on the migration of foam cell based on FAK-F-actin signaling pathway

CHEN Linmu<sup>1,2</sup>, HUANG Yunxiu<sup>3</sup>, LI Yunjing<sup>2</sup>, GUO Jun<sup>1</sup>

(Department of Cardiology, First Affiliated Hospital, Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510006, China; 2. Department of Clinical Pharmacy, 3. Department of Laboratory Medicine, Zhongshan People's Hospital, Zhongshan, Guangdong 528403, China)

[KEY WORDS] foam cells; fucosyltransferase 8; focal adhesion kinase; F-actin; migration

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect and mechanism of fucosyltransferase 8 (Fut8) on the migration of foam cells. **Methods** The change of Fut8 expression was detected after the foam cell model was established, and the direct relationship between foam cell motility and Fut8 expression was identified. The effects of Fut8 overexpression on the fibrous actin (F-actin) polymerization and the phosphorylation of upstream molecule focal adhesion kinase (FAK) were examined. **Results** During the formation of foam cells, the expression of Fut8 was significantly down-regulated, and overexpression of Fut8 could repair the impaired migration of foam cells. Expression of F-actin was significantly down-regulated as foam cell motility decreased, and was regulated by Fut8. Phosphorylation of FAK was significantly inhibited when Fut8 expression was down-regulated, and overexpression of Fut8 could result in significantly enhanced phosphorylation of FAK. **Conclusion** Inhibition of Fut8-FAK-F-actin pathway may be one of the reasons for the weakening of foam cell motility.

糖基化修饰是一种普遍发生于内质网和高尔基体内的蛋白翻译后修饰<sup>[1]</sup>,包括 N-糖基化修饰和 O-糖基化修饰两种主要修饰类型<sup>[2]</sup>。以往研究显示生物体内多数蛋白属于糖蛋白,糖链结构对蛋白质

折叠、稳定性及分泌等功能具有重要作用<sup>[3]</sup>。岩藻糖基转移酶 8(fucosyltransferase 8, Fut8)以  $\alpha$ -1,6 糖苷键的形式将 GDP-岩藻糖转移到与天冬酰胺相连的 N-糖链还原末端的乙酰葡萄糖胺上,形成  $\alpha$ -1,6 岩

[收稿日期] 2020-03-05

[修回日期] 2020-05-10

[基金项目] 广东省医学科研基金项目(B2020116);中山市人民医院医学科研基金项目(B2018063);中山市第三批社会公益与基础研究专项(2020B3004)

[作者简介] 陈林木,博士,主管药师,研究方向为动脉粥样硬化的发生机制,E-mail 为 89638806@qq.com。郭军,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向为冠心病的发病机制,E-mail 为 dr.guojun@163.com。

藻糖基化修饰(又称核心岩藻糖基修饰)<sup>[4]</sup>。Fut8是在哺乳动物中催化蛋白核心岩藻糖修饰的唯一糖基转移酶,对糖蛋白发挥正常的生理功能有着重要的调节性作用<sup>[5]</sup>。既往研究证实蛋白的 $\alpha$ -1,6岩藻糖基化修饰与多种细胞的运动迁移能力密切相关,如肿瘤细胞和成纤维细胞等<sup>[6-7]</sup>。本课题组前期研究发现溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)能够通过抑制B族I型清道夫受体(scavenger receptor class B type I, SR-B I)表达减少脂质外排而诱导RAW264.7巨噬细胞向泡沫细胞转化<sup>[8]</sup>,且形成的泡沫细胞运动能力明显下降。预实验结果显示Fut8和核心岩藻糖基化修饰水平在泡沫细胞形成过程中明显下降,过表达Fut8后泡沫细胞的运动能力得到明显恢复<sup>[9]</sup>,因此Fut8在泡沫细胞运动能力减弱滞留斑块过程中发挥了重要作用。糖基转移酶的主要功能是给下游功能蛋白添加糖链,进而影响其稳定性和功能等。其本身不作为细胞功能的直接执行者,因此仍需进一步探讨Fut8对泡沫细胞运动能力调节的具体机制。

局部黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)是一种非受体酪氨酸激酶<sup>[10]</sup>,以往研究证实其磷酸化改变调控纤维型肌动蛋白(fibrous actin, F-actin)重组,从而影响细胞的生长、分化、迁移等重要功能<sup>[11-12]</sup>。Ni等<sup>[13]</sup>发现Plectin抑制阿霉素诱导的足细胞凋亡的主要机制是抑制integrin $\alpha$ 6 $\beta$ 4/FAK/p38 MAPK通路从而减轻F-actin细胞骨架紊乱。Norcantharidin通过抑制FAK/Paxillin轴破坏了F-actin的重组导致人类黏液表皮样癌YD-15细胞迁移和侵袭<sup>[14]</sup>。MGF-C25E(一种合成的机械生长因子E肽)通过活化FAK-ERK1/2信号通路增加F-actin多聚,导致伪足形成,从而促进大鼠肌腱细胞迁移<sup>[15]</sup>。由此可见,FAK活化改变对F-actin多聚的影响是多种细胞运动迁移能力的重要因素之一。那么Fut8对泡沫细胞运动能力的影响是否是通过FAK-F-actin通路而发挥作用呢?目前尚未见报道。

本研究拟在明确Fut8改变与泡沫细胞运动能力减弱关系的基础上探讨FAK-F-actin通路的变化情况,并进一步通过Fut8过表达实验阐明其对FAK活化的影响,为后续进一步探讨Fut8在动脉粥样硬化斑块中的作用提供前期实验基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞与试剂

RAW264.7巨噬细胞购自ATCC公司,利用含

10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养基培养于5%CO<sub>2</sub>、37℃的恒温培养箱中;油红O染色液和结晶紫染色液购自北京索莱宝有限公司;Phalloidin-iFluor 488、兔来源的Fut8抗体、 $\beta$ -actin抗体、p-FAK抗体及FAK抗体购自Abcam公司(英国);山羊来源的Fut8抗体购自Santa Cruz公司(美国);山羊抗兔和兔抗山羊二抗均购自北京博奥森有限公司;LCA凝集素(特异性识别核心岩藻糖基化修饰糖链)购自Vector Laboratories公司(美国)。

### 1.2 油红O染色

细胞经药物处理后,培养箱中取出24孔板,弃培养基。利用冷PBS清洗孔板3次,然后将PBS吸净。每孔加入约500  $\mu$ L 4%多聚甲醛固定液,常温下固定10 min,弃固定液。利用冷PBS清洗孔板3次,然后将PBS吸净。每孔加入200  $\mu$ L 0.3%油红O染色液,避光放入37℃烤箱内静置30 min,弃净油红O染色液。利用60%异丙醇分色10 s,迅速利用冷PBS洗去异丙醇。直接加入苏木精染色液,染核4 min,洗净苏木精后,甘油封片。显微镜观察并采集图片。

### 1.3 Western blot 检测

细胞经药物处理后,培养箱中取出培养瓶,弃培养基。利用RIPA裂解液提取细胞总蛋白,BCA法进行蛋白定量。根据BCA结果进行蛋白总量配平,每孔上样10  $\mu$ L。上层胶80 V恒压电泳约30 min,下层胶120 V恒压电泳约60 min。湿法恒流250 mA转膜,根据相对分子质量大小设置不同时间。根据蛋白Marker相对分子质量,获得包含目的蛋白条带,加入相应一抗,4℃孵育过夜。PBST洗膜后,加入二抗孵育1 h,再用TBST洗5 min,重复3次。设置化学发光仪的曝光时间,待出现明显条带停止曝光。图片灰度值用Image J进行统计和分析。

### 1.4 流式细胞术检测

细胞经药物处理后,培养箱中取出6孔板,弃培养基。经0.25%胰酶消化后转移至1.5 mL EP管中,1 000 r/min离心3 min,弃上清,用PBS清洗2次。每个样本加入200  $\mu$ L FITC标记的抗体(1:500),37℃孵育20 min,转入流式专用上机管,上机检测。实验结果用BD FACS软件进行分析处理。

### 1.5 免疫荧光染色

药物处理完成后取出细胞,冷PBS清洗3次,然后吸净PBS。每孔加入200  $\mu$ L 4%多聚甲醛室温固定10 min, PBS清洗3次。然后用1% Triton-100室温处理25 min, PBS清洗3次。5%牛血清白蛋白(BSA)于37℃封闭20 min。吸去BSA,直接加入一抗(1:300, PBS稀释),4℃孵育过夜。第二天早上

取出后,PBS 清洗 3 次。加入荧光标记二抗(1:800),37 °C 孵育 20 min。PBS 清洗 3 遍。封片,正置荧光显微镜油镜观察。

### 1.6 Transwell 实验

RAW264.7 巨噬细胞生长至对数期后,0.25% 胰酶消化重悬,计数后备用。Transwell 小室置于 24 孔板内,每孔加入细胞 10 万,培养液体积为 500  $\mu\text{L}$ 。培养过夜后,给予 LPA 药物处理 24 h,弃上室培养液,PBS 清洗后加入无血清培养液;下室加入含 10% FBS 的 DMEM 500  $\mu\text{L}$  作为趋化动力,放置 24 h。取出小室,用棉签擦除上室细胞,用 4% 多聚甲醛室温固定阴暗面细胞 10 min,弃多聚甲醛后自然风干 10 min,每孔加入 200  $\mu\text{L}$  0.1% 结晶紫染色液,染色 10 min。PBS 清洗 3 遍,封片后正置显微镜观察拍照。

### 1.7 鬼笔环肽染 F-actin

RAW264.7 巨噬细胞接种于带细胞爬片的 24 孔培养板内,按实验要求处理 RAW264.7 巨噬细胞,取出培养板,吸出培养液,PBS 漂洗 3 次。4% 多聚甲醛溶液室温固定 10 min,PBS 漂洗 3 次。含有 0.1% Triton X-100 的 PBS 室温通透 5 min,PBS 漂洗 3 次。取 1  $\mu\text{L}$  荧光鬼笔环肽原液加入 1 mL 含有 1% BSA 的 PBS 中。室温避光染色 90 min,PBS 漂洗 3 次,甘油封片,正置荧光显微镜观察。

### 1.8 过表达实验

Fut8 基因的 CDS 区序列通过上海吉玛公司合

成后,连接到 pcDNA3.1 质粒上构建 Fut8 过表达质粒(pcDNA3.1-Fut8)。用 Lipofectamine 3000 将阴性对照质粒(NC)和目的质粒转染 RAW264.7 巨噬细胞,6 h 后换液,加入完全培养基。48 h 后验证蛋白表达效果。给予药物进行后续的功能试验。

### 1.9 统计学处理

使用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析,两样本均数的比较采用独立样本 *t* 检验,多个样本均数的比较采用 one-way ANOVA 分析。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。所有数据均为重复 3 次以上的实验结果,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 2 结果

### 2.1 Fut8 表达在泡沫细胞形成过程中显著下降

基于前期的实验结果,首先用 200  $\mu\text{mol/L}$  LPA 处理 RAW264.7 细胞 24 h,油红 O 染色显示细胞内脂滴数量明显增多,表明 LPA 成功诱导泡沫细胞形成(图 1A)。Western blot 检测结果显示 Fut8 的总蛋白表达在泡沫细胞形成过程中显著下降(图 1B),免疫荧光染色也证实 Fut8 表达明显下调(图 1C)。Fut8 主要催化蛋白核心岩藻糖修饰,因此利用凝集素检测核心岩藻糖基化修饰水平的改变,流式细胞术检测结果显示细胞膜上总蛋白的核心岩藻糖基化修饰水平明显下调(图 1D)。

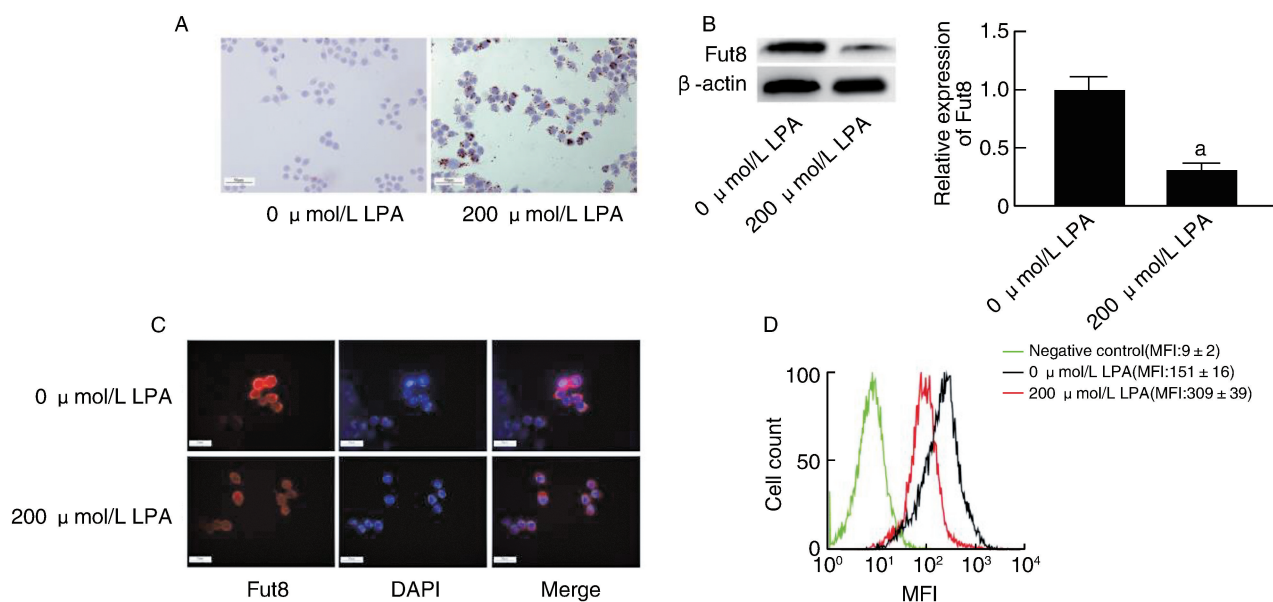


图 1. Fut8 表达在泡沫细胞形成过程中的变化情况

A 为油红 O 染色(400 $\times$ ),B 为 Western blot 检测,C 为免疫荧光染色(1 000 $\times$ ),D 为流式细胞术检测。

a 为  $P < 0.05$ ,与 0  $\mu\text{mol/L}$  LPA 组相比。

Figure 1. Changes of Fut8 expression during foam cell formation

### 2.2 过表达 Fut8 恢复泡沫细胞的运动能力

泡沫细胞运动能力降低是导致其滞留斑块的重要因素。Transwell 实验显示,经过 LPA 处理后穿透到下室的泡沫细胞数量较对照组明显减少(图 2A)。为了进一步明确 Fut8 表达下调与泡沫细胞运动能力下降之间的直接联系,利用空载质粒(NC)

和 pcDNA3.1-Fut8 分别转染 RAW264.7 巨噬细胞,72 h 后检测蛋白水平。结果显示,过表达组 Fut8 的蛋白表达显著上升(图 2B)。在过表达 Fut8 的情况下,穿透到下室的细胞数量明显增多(图 2C),表明其减弱的运动能力得到恢复。

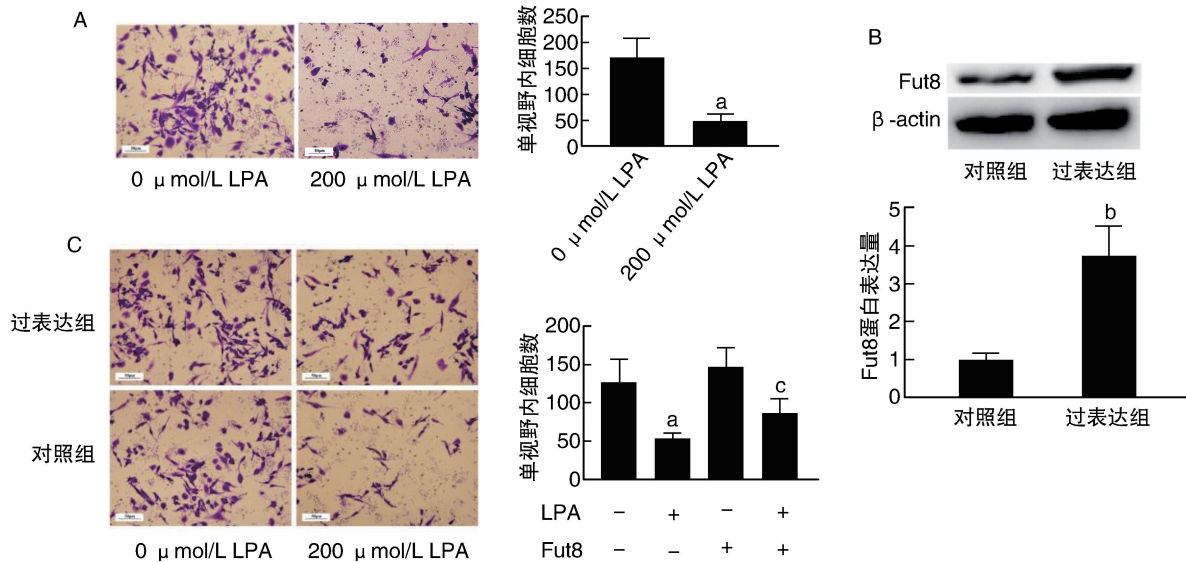


图 2. Fut8 对泡沫细胞运动能力的影响(结晶紫染色,400×)

a 为  $P < 0.05$ , 与 0 μmol/L LPA 组相比; b 为  $P < 0.05$ , 与对照组相比; c 为  $P < 0.05$ , 与 200 μmol/L LPA 组相比。

Figure 2. Effect of Fut8 on the migration of foam cell (Crystal violet staining, 400×)

### 2.3 过表达 Fut8 显著增加 F-actin 的表达

F-actin 的聚合形成细胞突触,导致细胞定向迁移。当 F-actin 聚合受阻时,会导致细胞运动能力下降。因此利用鬼笔环肽对 F-actin 进行特异性染色,

观察 F-actin 聚合情况。结果显示,巨噬细胞向泡沫细胞转变后细胞表面的突触明显减少(图 3A)。随着 Fut8 表达的增加,细胞表面的突触明显增多,表明 F-actin 的聚合与 Fut8 的表达呈正相关(图 3B)。

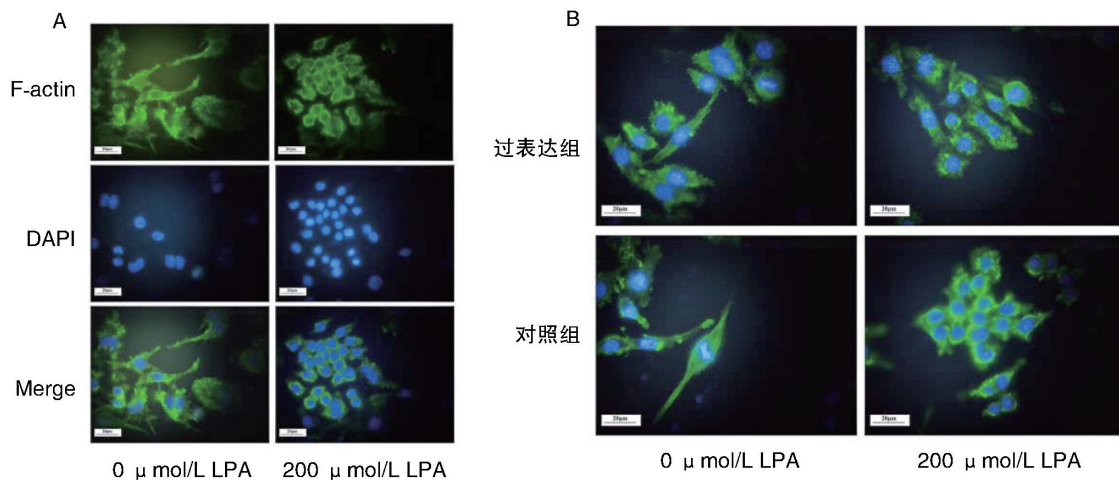


图 3. Fut8 对 F-actin 聚合的影响(鬼笔环肽染色,1 000×)

Figure 3. Effect of Fut8 on F-actin polymerization (Phalloidin staining, 1 000×)

## 2.4 Fut8 抑制 FAK 磷酸化

为了进一步探讨泡沫细胞运动能力下降过程中 F-actin 多聚减少的原因,检测了 F-actin 上游分子 FAK 的表达改变情况。Western blot 检测结果显

示,LPA 刺激细胞后,FAK 的磷酸化(Y397 位点)明显减弱(图 4A)。过表达 Fut8 后,减弱的 FAK 磷酸化得到明显恢复(图 4B),表明 FAK 活化受到 Fut8 的调节。

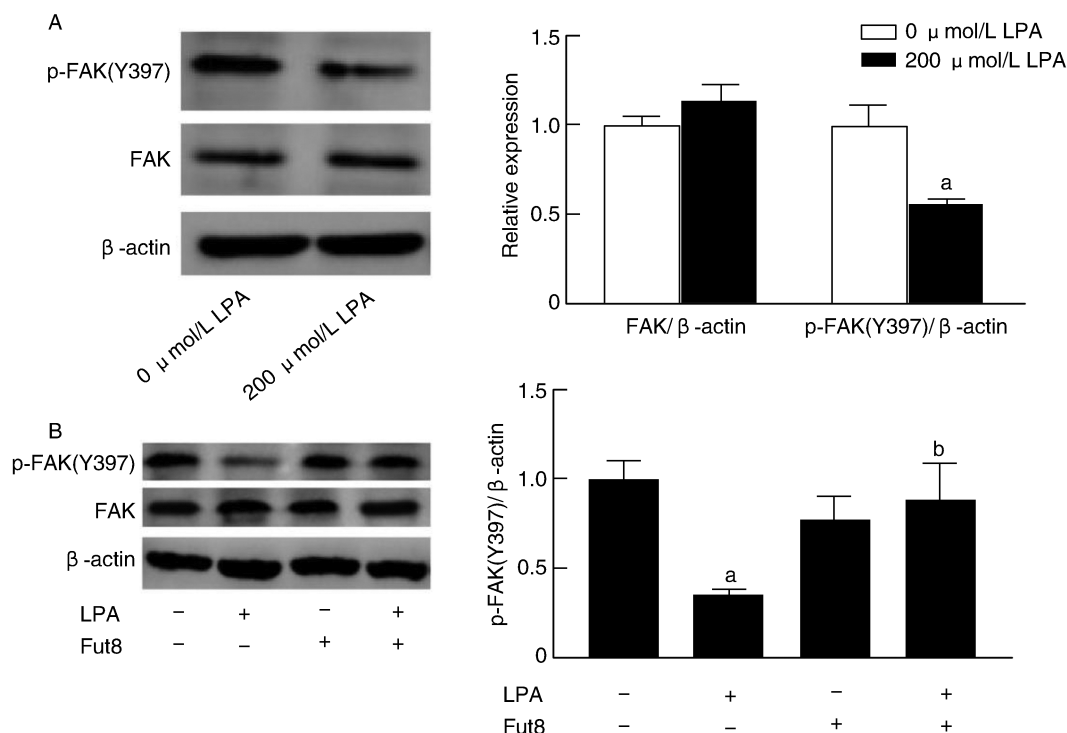


图 4. Fut8 对 FAK 磷酸化的影响

a 为  $P < 0.05$ , 与 0  $\mu\text{mol/L}$  LPA 组相比; b 为  $P < 0.05$ , 与 200  $\mu\text{mol/L}$  LPA 组相比。

Figure 4. Effect of Fut8 on FAK phosphorylation

## 3 讨论

核心岩藻糖修饰作为最重要的蛋白质翻译后修饰形式之一,被认为是糖蛋白糖链合成的终末反应,可参与构成某些重要黏附分子的糖链结构<sup>[16]</sup>。既往研究证实蛋白的  $\alpha$ -1,6 岩藻糖基化修饰与细胞的运动迁移能力密切相关。Wang 等<sup>[17]</sup>研究发现 miR-198 通过靶向敲低 Fut8 抑制裸鼠体内异种移植物的生长和结直肠癌的侵袭,过表达 Fut8 会显著增加其侵袭能力。因此,它通过影响 E-cadherin 的  $\alpha$ -1,6 岩藻糖基化修饰,过表达 Fut8 能够促进大细胞肺癌细胞 95C 细胞的迁移,敲低 Fut8 能够增强大细胞肺癌细胞 95D 细胞的迁移<sup>[7]</sup>。但以往研究多集中于肿瘤领域,可能与肿瘤发生时蛋白糖基化丰度较高有关。本研究发现泡沫细胞形成时,Fut8 及核心岩藻糖基化修饰水平均呈现明显的下降,而过表达 Fut8 后,减弱的运动能力得到明显恢复,表明 Fut8 表达水平下降与泡沫细胞运动能力下降之间

存在直接的联系。那么 Fut8 分子本身表达调节的具体机制呢?课题组前期研究发现,转录因子 HNF1 $\alpha$  在 LPA 刺激巨噬细胞后,其入核明显减少,导致 Fut8 启动子活化减少,从基因转录水平抑制了 Fut8 的表达<sup>[9]</sup>。上述实验结果为后续进一步研究 Fut8 在动脉粥样硬化发生中的作用提供了分子学基础。

N-糖苷键型修饰类型中添加岩藻糖类的岩藻糖基转移酶和添加唾液酸的唾液酸转移酶在糖链的最顶端添加糖基,而这恰好是其他细胞蛋白的结合位点,因此这两种糖基转移酶可能具有最大的生物功能相关性。课题组前期研究证实  $\alpha$ -2,6 唾液酸转移酶 1 能够通过下调 VE-Cadherin 的  $\alpha$ -2,6 唾液酸水平从而损伤内皮细胞之间的连接,使得更多的单核细胞穿过内皮,渗透到内皮下,造成动脉粥样硬化事件的进展<sup>[18]</sup>。因此多个糖基转移酶均在动脉粥样硬化发生发展中起到重要作用,但是它们在不同的发生阶段其重要性略有不同。

细胞的定向运动包括细胞极化,引导端质膜前伸形成黏着斑,肌动蛋白压力丝收缩,尾端黏着斑解聚等多个步骤组成<sup>[19]</sup>。相关蛋白在活化的 FAK 诱导下能够募集至黏着斑部位,从而改变肌动蛋白细胞骨架,将细胞膜上的整合素等分子和胞质内的肌动蛋白丝连接起来,改变细胞的迁移能力<sup>[20]</sup>。本研究结果发现,LPA 刺激泡沫细胞形成后,FAK 的磷酸化明显受到抑制,下游 F-actin 形成触角的能力也显著减弱,表明 FAK 磷酸化在泡沫细胞运动能力改变过程中的重要作用。另外,本研究发现 Fut8 过表达时 FAK 的磷酸化得到恢复,表明其受到 Fut8 的调节。但是 FAK 并非糖基化蛋白,因此推测 Fut8 对 FAK 的调节并非直接作用。以往研究显示整合素  $\alpha 5\beta 3$ /FAK/ERK<sup>[21]</sup>、Sp1/整合素  $\alpha$ /FAK<sup>[22]</sup> 和 TGF- $\beta$ /FAK/Akt<sup>[23]</sup> 等信号通路改变对细胞运动能力存在明显影响。而上游的整合素分子和 TGF- $\beta$  等分子均存在多个预测糖基化修饰位点,因此推测 Fut8 的改变会影响上游的整合素和/或 TGF- $\beta$  等分子糖基化修饰,从而使得 FAK 活化受阻,最终影响到泡沫细胞运动能力。因此,后续研究将进一步寻找泡沫细胞模型条件下糖蛋白底物核心岩藻糖基化修饰的改变并进一步探讨其机制。

#### [参考文献]

- [1] Schoberer J, Shin YJ, Vavra U, et al. Analysis of protein glycosylation in the ER[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1691: 205-222.
- [2] Luiken JJ, Chanda D, Nabben M, et al. Post-translational modifications of CD36 (SR-B2): Implications for regulation of myocellular fatty acid uptake[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(12): 2253-2258.
- [3] Oliveira-Ferrer L, Legler K, Milde-Langosch K. Role of protein glycosylation in cancer metastasis[J]. *Semin Cancer Biol*, 2017, 44: 141-152.
- [4] Yu M, Cui X, Wang H, et al. FUT8 drives the proliferation and invasion of trophoblastic cells via IGF-1/IGF-1R signaling pathway[J]. *Placenta*, 2019, 75: 45-53.
- [5] 李明, 白亚强, 何春阳, 等. 核心岩藻糖基转移酶 Fut8 基因敲除小鼠肠道菌群特征[J]. *中国微生态学杂志*, 2017, 29(4): 381-384.
- [6] Zhao Y, Itoh S, Wang X, et al. Deletion of core fucosylation on  $\alpha 3\beta 1$  integrin down-regulates its functions[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(50): 38343-38350.
- [7] Shao K, Chen ZY, Gautam S, et al. Posttranslational modification of E-cadherin by core fucosylation regulates Src activation and induces epithelial-mesenchymal transition-like process in lung cancer cells[J]. *Glycobiology*, 2015, 26(2): 142-154.
- [8] Chen L, Zhang J, Deng X, et al. Lysophosphatidic acid directly induces macrophage-derived foam cell formation by blocking the expression of SRBI[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(3): 587-594.
- [9] Chen L, Zhang J, Yang X, et al. Lysophosphatidic acid decreased macrophage foam cell migration correlated with downregulation of fucosyltransferase 8 via HNF1 $\alpha$  [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 290: 19-30.
- [10] 安君艳, 张晓岚. 黏着斑激酶与细胞迁移[J]. *细胞生物学杂志*, 2008, 30(6): 707-710.
- [11] Rodriguez A, Kashina A. Posttranscriptional and posttranslational regulation of actin[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2018, 301(12): 1991-1998.
- [12] 刘敬, 杨丹, 李汇华. 血管紧张素 II 对血管内皮细胞骨架的损伤作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 18(02): 117-120.
- [13] Ni Y, Wang X, Yin X, et al. Plectin protects podocytes from adriamycin-induced apoptosis and F-actin cytoskeletal disruption through the integrin  $\alpha 6\beta 4$ /FAK/p38 MAPK pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(11): 5450-5467.
- [14] Hong KO, Ahn CH, Yang IH, et al. Norcantharidin suppresses YD-15 cell invasion through inhibition of FAK/paxillin and F-actin reorganization[J]. *Molecules*, 2019, 24(10): 1928.
- [15] Zhang B, Luo Q, Mao X, et al. A synthetic mechano-growth factor E peptide promotes rat tenocyte migration by lessening cell stiffness and increasing F-actin formation via the FAK-ERK1/2 signaling pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2014, 322(1): 208-216.
- [16] Noda K, Miyoshi E, Gu J, et al. Relationship between elevated FX expression and increased production of GDP-L-fucose, a common donor substrate for fucosylation in human hepatocellular carcinoma and hepatoma cell lines [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(19): 6282-6289.
- [17] Wang M, Wang J, Kong X, et al. miR-198 represses tumor growth and metastasis in colorectal cancer by targeting fucosyl transferase 8 [J]. *Sci Rep*, 2015, 4(1): 6145.
- [18] Deng X, Zhang J, Liu Y, et al. TNF- $\alpha$  regulates the proteolytic degradation of ST6Gal-1 and endothelial cell-cell junctions through up-regulating expression of BACE1[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 40256.
- [19] 廖艳. 溶血磷脂酸促进胰腺癌细胞运动机制的研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2014; 2.
- [20] 程芳洲, 鲍翠玉, 彭绩, 等. 替米沙坦对大鼠血管损伤性重塑过程中粘着斑激酶表达和活化的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15(7): 500-502.
- [21] Song L, Zhang F, Zhou R, et al. hCTLA4-gene-modified human bone marrow-derived mesenchymal stem cells (hBMMSCs) maintain POSTN secretion to enhance the migration capability of allogeneic hBMMSCs through the integrin  $\alpha 5\beta 3$ /FAK/ERK signaling pathway [J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020: 3608284.
- [22] Zang D, Zhang C, Li C, et al. LPPR4 promotes peritoneal metastasis via Sp1/integrin  $\alpha$ /FAK signaling in gastric cancer[J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(3): 1026-1044.
- [23] 赵燕燕. 黄芪甲苷通过 TGF- $\beta$ /Smad 和 TGF- $\beta$ /FAK/Akt 信号通路抑制外阴鳞癌细胞的增殖、侵袭和转移[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2019: 35.

(此文编辑 文玉珊)