

宫内香烟烟雾暴露对新生大鼠延髓 3-巯基丙酮酸转硫酶表达的影响*

聂黎虹^{1,2}, 胡雅洁¹, 李显科¹, 薛莲¹, 贾清怡³, 杨以文¹, 郑煜^{1△}

1. 四川大学华西基础医学与法医学院 生理学教研室(成都 610041); 2. 宁夏医科大学基础医学院 生理学系(银川 750004); 3. 四川大学华西临床学院(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨 3-巯基丙酮酸转硫酶(3-mercaptopyruvate sulfurtransferase, 3MST)在正常新生大鼠延髓的表达及宫内香烟烟雾暴露对其表达的影响。**方法** SD 孕鼠随机分为正常对照组和香烟烟雾暴露组($n=8$),与孕鼠相对应的新生(1 d)大鼠为本研究的实验对象。采用 RT-PCR 和 Western blot 法,分别观察正常新生大鼠延髓组织中 3MST mRNA 和蛋白的表达情况及宫内香烟烟雾暴露对其表达的影响;采用免疫组织化学法观察正常新生大鼠延髓呼吸相关核团神经元 3MST 的表达和分布情况及宫内香烟烟雾暴露对其表达的影响。**结果** 正常对照组新生大鼠延髓组织中有 3MST mRNA 和蛋白的表达;香烟烟雾暴露组新生大鼠延髓组织中 3MST mRNA 和蛋白的表达水平显著增加($P<0.05$)。3MST 在正常对照组新生大鼠前包钦格复合体(pre-BötC)、舌下神经核(12N)、疑核(Amb)、面神经核(FN)和孤束核(NTS)神经元中有弱表达。与对照组比较,香烟烟雾暴露组新生大鼠 pre-BötC、12N、Amb 和 FN 神经元中 3MST 免疫阳性产物平均光密度值增加($P<0.05$);NTS 神经元中 3MST 免疫阳性产物平均光密度值无明显变化($P>0.05$)。**结论** 3MST 存在于正常新生大鼠延髓呼吸相关核团神经元;宫内香烟烟雾暴露可上调延髓 3MST 的表达,提示 3MST-硫化氢(H_2S)途径可能参与宫内香烟烟雾暴露致新生大鼠延髓呼吸中枢损伤保护过程。

【关键词】 3-巯基丙酮酸转硫酶 香烟烟雾 硫化氢 延髓 呼吸中枢

Effects of Intrauterine Cigarette Smoking Exposure on Expression of 3-mercaptopyruvate Sulfurtransferase in Medulla Oblongata of Neonatal Rats NIE Li-hong^{1,2}, HU Ya-jie¹, LI Xian-ke¹, XUE Lian¹, JIA Qing-yi³, YANG Yi-wen¹, ZHENG Yu^{1△}. 1. Department of Physiology, West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Physiology, School of Basic Medical Sciences, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 3. West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: yzheng@scu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the expression of 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (3MST) in medulla oblongata of neonatal rats and effects of intrauterine cigarette exposure on its expression. **Methods** Sprague Dawley pregnant rats were randomly divided into 2 groups, control group and cigarette smoke exposure group ($n=8$). 3MST mRNA and protein expression in medulla oblongata of neonatal rats were analysed by RT-PCR and Western blot, respectively, and the expression of 3MST in the neurons of respiratory-related nuclei in medulla oblongata of neonatal rats was investigated with immunohistochemical technique. **Results** The RT-PCR and Western blot analyses showed that 3MST mRNA and protein were expressed in the medulla oblongata of neonatal rats and intrauterine cigarette exposure promoted their expression ($P<0.05$). Immunohistochemical staining indicated that 3MST existed in the neurons of pre-Bötzing complex (pre-BötC), hypoglossal nucleus (12N), ambiguous nucleus (Amb), facial nucleus (FN) and nucleus tractus solitarius (NTS) in control group of the animals and the mean optical densities of 3MST-positive neurons in the pre-BötC, 12N, Amb and FN, but not NTS, were significantly increased in cigarette smoke exposure group ($P<0.05$). **Conclusions** 3MST exists in the neurons of medullary respiratory nuclei of neonatal rats and its expression can be up-regulated by intrauterine cigarette exposure, suggesting that the 3MST- H_2S pathway may be involved in protection of medullary respiratory centers against injury induced by intrauterine cigarette exposure.

【Key words】 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase Cigarette smoke Hydrogen sulfide Medulla oblongata Respiratory center

孕妇吸烟(含被动吸烟)是引起新生儿猝死综合征(sudden infant death syndrome, SIDS)的重要原因之一^[1]。香烟燃烧时所释放的有害物质具有神经毒性作用,对胎儿脑干呼吸中枢的发育产生不良影

* 国家自然科学基金(No. 31271233, J1103604)和教育部博士点基金(No. 20100181110048, 20120181110094)资助

△ 通讯作者, E-mail: yzheng@scu.edu.cn

响^[2]。硫化氢(hydrogen sulfide, H₂S)是新型气体信号分子,参与机体多系统器官的病理、生理过程^[3]。我们的前期研究也表明,在延髓水平, H₂S参与对正常呼吸节律的中枢性调控^[4]。催化内源性 H₂S 生成的酶主要有 3 种,即胱硫醚-β-合酶(cystathionine-β-synthase, CBS)、胱硫醚 γ-裂解酶(cystathionine-γ-lyase, CSE)和 3-巯基丙酮酸转硫酶(3-mercaptopyruvate sulfurtransferase, 3MST)。传统观念认为, CBS 是脑内催化生成 H₂S 最为主要的酶^[5]。但 2009 年, Shibuya 等^[6]发现, CBS 基因敲除小鼠脑内 H₂S 水平与野生型小鼠相似, 此时 H₂S 是由 3MST 催化半胱氨酸等化合物而生成, 该结果提示 3MST 或许是中枢神经系统内催化生成 H₂S 更为重要的酶。关于 3MST 是否存在于延髓组织及 3MST-H₂S 途径是否参与延髓呼吸中枢损伤的保护作用尚无文献报道。本研究拟建立宫内香烟烟雾暴露致大鼠生长发育迟缓动物模型, 采用分子生物学和形态学技术, 探讨 3MST 在新生大鼠延髓呼吸中枢神经元的表达及宫内香烟烟雾暴露对其表达的影响。

1 材料与方法

1.1 实验分组和香烟烟雾暴露

成年 SD 大鼠, 体质量 220~270 g, 由四川大学实验动物中心提供。将雌鼠与雄鼠按 2:1 的数量比例合笼, 次日早晨进行雌鼠阴道涂片, 如发现精子则为妊娠第 0 d。将孕鼠随机分为 2 组: 对照组($n=8$)和香烟烟雾暴露组($n=8$)。香烟烟雾暴露组孕鼠从妊娠第 7 d 开始暴露于香烟烟雾, 方法是将孕鼠置于 0.24 m³ (80 cm×60 cm×50 cm) 的自制香烟烟雾暴露箱内, 箱内放置一小型电风扇, 用于混匀箱内气体^[7]。每次香烟烟雾暴露总香烟支数为 10 支 (2 支/10 min, 间隔 2 min, 重复 4 次), 共用时 1 h。每日香烟烟雾暴露 2 次 (分别于 9:00 am 和 3:00 pm 各暴露一次)。对照组孕鼠置于另一相同大小的箱子内, 自由呼吸空气, 不进行香烟烟雾暴露。所有孕鼠处理结束日期均为妊娠第 20 d。在香烟烟雾暴露过程 (10 min) 中, 用测氧仪监测箱体内氧浓度变化, 其变化范围为 20.2%~21.0%; 用一氧化碳(carbon monoxide, CO)检测仪监测箱体中 CO 的浓度, 其范围为 (163.4±9.8) ppm。

妊娠第 20 d, 孕鼠尾静脉取血 0.5 mL, 室温放置 1 h 后, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清, -70 °C 冻存, 用于检测孕鼠血清可替宁(cotinine)浓度。

妊娠第 21 d, 孕鼠自然生产, 新生 (1 d) 大鼠为本研究的实验对象, 从每只孕鼠所生新生大鼠中随机选取 3 只, 乙醚麻醉后, 断头取延髓组织, 2 例延髓组织置液氮冻存, 分别用于 RT-PCR 实验 ($n=8$) 和 Western blot 实验 ($n=8$), 1 例置于 40 g/L 多聚甲醛中, 其中每组取 6 只新生大鼠延髓组织标本用于免疫组织化学实验 ($n=6$)。

1.2 主要试剂

Cotinine (Mouse/Rat) ELISA 试剂盒 (Abnova 公司, 中国台湾); 兔抗大鼠 3MST 多克隆抗体 (sigma 公司, 美国); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (碧云天生物技术研究, 中国); 兔抗大鼠 β-actin 多克隆抗体 (北京博奥森生物技术有限公司, 中国); 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗 (北京中杉金桥试剂有限公司, 中国); 超敏 ECL 发光液 (碧云天生物技术研究, 中国); 逆转录试剂盒 (Fermentas 公司, 美国); GTVision™ III 抗兔/鼠通用型免疫组化检测试剂盒 (基因科技上海有限公司, 中国)。

1.3 ELISA 法检测血清 cotinine 浓度

移液器吸取 10 μL 标准品、质控样品、血清加入到抗体包被的板孔内, 一式两份; 每孔加酶标抗原 100 μL, 室温 (18~26 °C) 避光孵育 1 h; 每孔加 300 μL 双蒸水, 洗板 6 次; 每孔加 100 μL 底物反应液, 室温避光孵育 30 min; 每孔加 100 μL 反应终止液; 读取酶标仪 450 nm 处吸光度值; ELISACalc 软件制作标准曲线, 并分析数据。

1.4 RT-PCR 法检测延髓组织中 3MST mRNA 的表达

通过 RT-PCR 实验检测延髓组织中 3MST mRNA 的表达, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GADPH) mRNA 作为内参。提取延髓组织总 RNA, 用核酸蛋白分析仪检测 RNA 浓度和纯度。应用逆转录试剂盒, RNA 定量为 5 ng 进行逆转录, 然后行 PCR 扩增。扩增引物序列和产物如下: 3MST 上游引物: 5'-ACATCCCTGGCTCAGTAAACA-3'; 下游引物: 5'-TGTGTCCTTCACAGGGTCTTC-3', 扩增产物长度为 292 bp; GAPDH 上游引物: 5'-ACAGCAACAGGGTGGTGGAC-3', 下游引物: 5'-TTTGAGGGTGCAGCGAACTT-3', 扩增产物长度为 252 bp。3MST 和 GAPDH 基因扩增反应条件均为 95 °C, 5 min; 95 °C, 30 s, 60 °C, 30 s, 72 °C, 20 s, 35 个循环; 72 °C, 5 min, 扩增的产物进行琼脂糖凝胶电泳。凝胶成像系统拍照, Image J 软件分析实验结果。

1.5 Western blot 法检测延髓组织中 3MST 蛋白的表达

提取延髓组织总蛋白,BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定样品蛋白含量;40 μg 蛋白的溶液体积为上样量;恒压电泳 80 V,30 min,转为 100 V,60 min;电泳结束后,恒压转膜 90 V,120 min;将膜取下,5%脱脂奶粉室温封闭 1 h;分别滴加 3MST(1:2 000 稀释)和 β -actin(1:1 000 稀释)兔多克隆一抗,室温孵育 2 h;Tris 缓冲盐溶液-Tween 20 (TBST)洗膜 3 次,每次 15 min;滴加山羊抗兔二抗(1:5 000 稀释),室温孵育 1 h;TBST 洗膜 3 次,每次 6 min;ECL 发光液显色,凝胶成像系统拍照,Image J 软件分析实验结果。

1.6 免疫组织化学方法检测 3MST 阳性神经元在延髓呼吸相关核团的分布

延髓组织置于 40 g/L 多聚甲醛中,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜,酒精梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋。从延髓尾端至脑桥头端行连续冠状切片,切片范围大致为后 100 μm 到前 1 200 μm ,片厚 5 μm ,间隔 4 张切片取 2 张,一张进行 HE 染色定位,到达目的平面后,选取相邻另一张切片行免疫组化染色。

采用 EnVision 二步法进行免疫组化染色。切片经常规脱蜡至水,3%过氧化氢室温孵育 15 min;磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3 次;滴加正常山羊血清封闭,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min;滴加多克隆兔抗大鼠 3MST 一抗(1:150),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 60 min;PBS 冲洗 3 次;滴加 50 μL A 液,室温孵育 30 min;PBS 冲洗 3 次;DAB 显色 8 min,用蒸馏水冲洗终止显色;苏木素复染,脱水,透明,封片。阴性对照用 PBS 代替一抗,其它步骤不变。Image plus 软件分析实验结果。

本实验观察核团如下:前包钦格复合体(pre-BötC)、舌下神经核(12N)、疑核(Amb)、面神经核(FN)和孤束核(NTS)。

1.7 统计学方法

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 cotinine 水平

香烟烟雾暴露组孕鼠血清 cotinine 浓度明显高于正常对照组,差异具有统计学意义[(92.3 \pm 15.7) ng/mL vs. (4.2 \pm 1.0) ng/mL, $P < 0.01$],说明香烟烟雾暴露的孕鼠血清尼古丁浓度明显升高。

2.2 3MST mRNA 表达水平的变化

RT-PCR 分析表明,正常新生大鼠延髓组织中存在 3MST mRNA 的表达;以内参 GAPDH 校正后,正常对照组和香烟烟雾暴露组新生大鼠延髓组织 3MST mRNA 相对表达量分别为 1.00 \pm 0.13 和 1.51 \pm 0.19,两组间比较差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

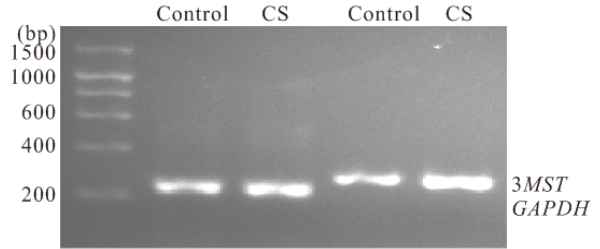


图1 宫内香烟烟雾暴露引起新生大鼠延髓组织 3MST mRNA 表达的变化

Fig 1 Change of 3MST mRNA expression in medulla oblongata of neonatal rats induced by intrauterine cigarette smoke exposure
CS: Cigarette smoke group

2.3 3MST 蛋白表达水平的变化

Western blot 分析表明,正常新生大鼠延髓组织中存在 3MST 蛋白的表达;以内参 β -actin 校正后,正常对照组和香烟烟雾暴露组新生大鼠延髓组织 3MST 蛋白相对表达量分别为 0.20 \pm 0.01 和 0.43 \pm 0.07,两组之间比较差异具有统计学意义($P < 0.01$),见图 2。

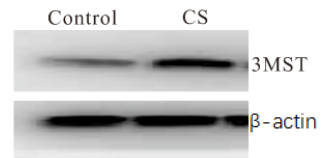


图2 宫内香烟烟雾暴露引起新生大鼠延髓组织 3MST 蛋白表达的变化

Fig 2 Change of 3MST protein expression in medulla oblongata of neonatal rats induced by intrauterine cigarette smoke exposure
CS: Cigarette smoke group

2.4 3MST 免疫组织化学染色结果

3MST 主要表达于神经元中,为胞浆阳性,见图 3。在正常对照组,3MST 在 pre-BötC、12N、Amb、FN、NTS 神经元中均有弱表达;与正常对照组比,香烟烟雾暴露组新生大鼠延髓 pre-BötC、12N、Amb 和 FN 神经元中 3MST 免疫阳性产物平均光密度值增加($P < 0.05$),NTS 神经元中 3MST 免疫阳性产物平均光密度值无明显变化($P > 0.05$)。见附表。

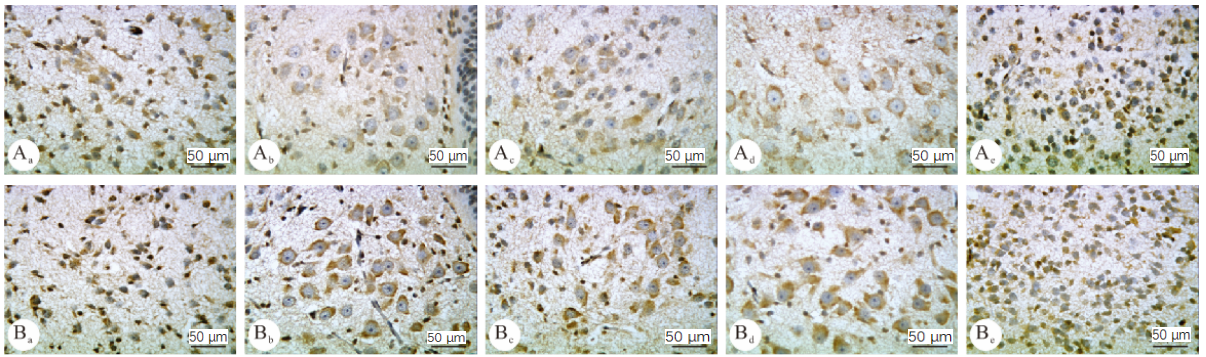


图 3 香烟烟雾暴露引起的新生大鼠舌下神经核神经元 3MST 表达的变化 (EnVision 二步法)

Fig 3 Change of 3MST expression of the neurons in the hypoglossal nucleus induced by intrauterine cigarette smoke exposure

A: Control group; B: Cigarette smoke group; a: Pre-BötC; b: 12N; c: Amb; d: FN; e: NTS. Scale bars: 50 μ m

附表 对照组与香烟烟雾暴露组新生大鼠不同核团 3MST 免疫组化光密度值比较 ($n=8$)

Table Comparison of optical densities of 3MST immunoreactivity in medullary nuclei of neonatal rats between control and cigarette smoke (CS) groups ($n=8$)

Group	pre-BötC	12N	Amb	FN	NTS
Control	0.28 \pm 0.02	0.25 \pm 0.02	0.25 \pm 0.01	0.28 \pm 0.02	0.31 \pm 0.04
CS	0.37 \pm 0.02*	0.35 \pm 0.03*	0.33 \pm 0.03*	0.35 \pm 0.01**	0.33 \pm 0.02

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs. control group

3 讨论

香烟烟雾中的主要有害成分 CO 和尼古丁不但可造成机体低氧、引起子宫动脉收缩,而且具有神经毒性作用,对胎儿脑干呼吸和心血管中枢的发育产生不良影响^[2]。H₂S 是新型气体信号分子,在哺乳动物体内可内源性产生并在多系统具有广泛的生物学效应,参与多种生理及病理生理过程,如调节学习和记忆^[8],舒张血管平滑肌^[9],介导炎症反应^[10],发挥组织缺血、缺氧损伤的保护作用^[11,12]等。2002 年,ETO 等^[5]报道,CBS 基因敲除后的小鼠脑内几乎测不到 H₂S,推测 CBS 是脑内催化生成 H₂S 最为主要的酶。但 2009 年,Shibuya 等^[6]在敲除小鼠脑内 CBS 基因的情况下发现小鼠脑内 H₂S 水平与野生型小鼠相似,认为 3MST 或许是中枢神经系统内催化生成 H₂S 更为重要的酶。我们前期研究发现,内源性 H₂S 在延髓水平参与对正常呼吸节律的中枢性调控^[4],并对急性缺氧所致延髓呼吸中枢损伤具有保护作用^[13]。这些现象提示,催化生成 H₂S 的酶 3MST 可能存在于延髓组织内,3MST-H₂S 途径可能参与对延髓呼吸中枢损伤的保护作用。

本研究结果显示,正常新生大鼠延髓组织中存在 3MST mRNA 表达,宫内香烟烟雾暴露可引起新生大鼠延髓 3MST mRNA 表达水平增加;Western blot 实验结果与 RT-PCR 实验结果一致,提示正常新生大鼠延髓组织中存在 3MST 蛋白的表达,宫内香烟烟雾暴露同样能够上调新生大鼠延

髓 3MST 蛋白的表达。根据以上结果,我们推测宫内香烟烟雾暴露致延髓组织 3MST 蛋白表达增加的作用可能是通过对 3MST 转录水平的调节来实现的,并且内源性 H₂S 的生成量可能会因此而增加,从而发挥其呼吸中枢损伤的保护作用。

延髓是基本呼吸节律起源的关键部位,通过 RT-PCR 和 Western blot 实验,我们首先明确延髓组织中存在 3MST mRNA 和蛋白的表达,随后我们又采用免疫组织化学技术对 3MST 在延髓呼吸相关核团中的分布进行了定位分析。免疫组化实验结果显示,3MST 存在于正常新生大鼠 pre-BötC、12N、Amb、FN、NTS 神经元中,宫内香烟烟雾暴露引起新生大鼠 pre-BötC、12N、Amb 和 FN 神经元 3MST 免疫阳性产物平均光密度值增加,提示宫内香烟烟雾暴露可使新生大鼠延髓组织 pre-BötC、12N、Amb 和 FN 神经元 3MST 的表达量增多,其中 pre-BötC 为重要的呼吸相关区域,与呼吸节律的产生有着密切的关系^[14]。而宫内香烟烟雾暴露可使 pre-BötC 神经元 3MST 表达增多,我们推测,在这种病理情况下,由 3MST 催化产生的 H₂S 可能会通过影响 pre-BötC 神经元的活动从而对节律性呼吸活动产生调节作用。此外,H₂S 对延髓呼吸中枢的缺氧损伤具有保护作用^[13],因此,我们推测,由 3MST 催化产生的 H₂S 也可能参与了宫内香烟烟雾暴露致新生大鼠延髓呼吸中枢损伤的保护效应。

综上所述,正常情况下新生大鼠延髓神经元存在 3MST,宫内香烟烟雾暴露可上调延髓 3MST 的

表达水平,且宫内香烟烟雾暴露可能导致新生大鼠延髓 H₂S 的生成增加,进而发挥对宫内香烟烟雾暴露致延髓呼吸中枢损伤的保护作用,这一现象可能是机体应对此种病理损伤的自我保护机制之一。

参 考 文 献

- 1 Fleming P, Blair PS. Sudden infant death syndrome and parental smoking. *Early Hum Dev*,2007;83(11):721-725.
- 2 Lavezzi AM, Ottaviani G, Matturri L. Adverse effects of prenatal tobacco smoke exposure on biological parameters of the developing brainstem. *Neurobiol Dis*,2005;20(2):601-607.
- 3 金红芳,杜军保,唐朝枢. “废气不废”:气体信号分子硫化氢的研究进展. *生理学报*,2010;62(6):495-504.
- 4 Hu H, Shi Y, Chen Q, *et al.* Endogenous hydrogen sulfide is involved in regulation of respiration in medullary slice of neonatal rats. *Neuroscience*,2008;156(4):1074-1082.
- 5 Eto K, Ogasawara M, Umemura K. Hydrogen sulfide is produced in response to neuronal excitation. *J Neurosci*,2002;22(9):3386-3391.
- 6 Shibuya N, Tanaka M, Yoshida M, *et al.* 3-Mercaptopyruvate sulfurtransferase produces hydrogen sulfide and bound sulfane sulfur in the brain. *Antioxid Redox Signal*,2009;11(4):703-714.
- 7 Wang T, Han SX, Zhang SF, *et al.* Role of chymase in cigarette smoke-induced pulmonary artery remodeling and pulmonary hypertension in hamsters. *Respir Res*,2010;11(1):

- 36.
- 8 Abe K, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous neuromodulator. *J Neurosci*,1996;16(3):1066-1071.
- 9 Zhao W, Zhang J, Lu Y, *et al.* The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous KATP channel opener. *EMBO J*,2001;20(21):6008-6016.
- 10 Li L, Bhatia M, Moore PK. Hydrogen sulphide—a novel mediator of inflammation? *Curr Opin Pharmacol*,2006;6(2):125-129.
- 11 Ren C, Du A, Li D, *et al.* Dynamic change of hydrogen sulfide during global cerebral ischemia-reperfusion and its effect in rats. *Brain Res*,2010;1345:197-205.
- 12 Tay AS, Hu LF, Lu M, *et al.* Hydrogen sulfide protects neurons against hypoxic injury via stimulation of ATP-sensitive potassium channel/protein kinase C/extracellular signal-regulated kinase/heat shock protein 90 pathway. *Neuroscience*,2010;167(2):277-286.
- 13 Pan JG, Zhang J, Zhou H, *et al.* Protective action of endogenously generated H(2)S on hypoxia-induced respiratory suppression and its relation to antioxidation and down-regulation of c-fos mRNA in medullary slices of neonatal rats. *Respir Physiol Neurobiol*,2011;178(2):230-234.
- 14 Smith JC, Ellenberger HH, Ballanyi K, *et al.* Pre-Bötzing complex; a brainstem region that may generate respiratory rhythm in mammals. *Science*,1991;254(5032):726-729.

(2012-12-13 收稿,2013-03-29 修回)

编辑 汤洁

(上接第 525 页)

MDA-MB-231 细胞的增殖活性。

以上研究表明,细胞内的非分泌型 CXCL16 与乳腺癌细胞的恶性表型相关,低侵袭的癌细胞高表达 CXCL16,增加肿瘤细胞非分泌型 CXCL16 的表达可以抑制 MDA-MB-231 细胞的侵袭和迁移,而不影响其增殖活性。本研究探讨了 CXCL16 表达对乳腺癌细胞生物学特性的作用,为乳腺癌发生发展机制的研究提供了参考,其具体的分子机制仍需进一步研究阐明。

参 考 文 献

- 1 Matloubian M, David A, Engel S, *et al.* A transmembrane CXC chemokine is a ligand for HIV-coreceptor Bonzo. *Nat Immunol*,2000;1(4):298-304.
- 2 Zlotnik A, Burkhardt AM, Homey B. Homeostatic chemokine receptors and organ-specific metastasis. *Nat Rev Immunol*,2011;11(9):597-606.
- 3 Lu Y, Wang J, Xu Y, *et al.* CXCL16 functions as a novel chemotactic factor for prostate cancer cells *in vitro*. *Mol Cancer Res*,2008;6(4):546-554.

- 4 Hojo S, Koizumi K, Tsuneyama K, *et al.* High-level expression of chemokine CXCL16 by tumor cells correlates with a good prognosis and increased tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer. *Cancer Res*,2007;67(10):4725-4731.
- 5 Gutwein P, Schramme A, Sinke N, *et al.* Tumoural CXCL16 expression is a novel prognostic marker of longer survival times in renal cell cancer patients. *Eur J Cancer*,2009;45(3):478-489.
- 6 Wang J, Lu Y, Koch AE, *et al.* CXCR6 induces prostate cancer progression by the AKT/mammalian target of rapamycin signaling pathway. *Cancer Res*,2008;68(24):10367-10376.
- 7 Ludwig A, Hundhausen C, Lambert MH, *et al.* Metalloproteinase inhibitors for the disintegrin-like metalloproteinases ADAM10 and ADAM17 that differentially block constitutive and phorbol ester-inducible shedding of cell surface molecules. *Comb Chem High Throughput Screen*,2005;8(2):161-171.
- 8 Davison Z, de Blacquièrre GE, Westley BR, *et al.* Insulin-like growth factor-dependent proliferation and survival of triple-negative breast cancer cells: implications for therapy. *Neoplasia*,2011;13(6):504-515.

(2013-01-04 收稿,2013-03-07 修回)

编辑 沈进