

·实验研究论著·

热疗联合特异性沉默趋化因子受体 4 对骨肉瘤增殖和侵袭的影响

陈志达¹ 钟渊福¹ 陈云萍² 曾宇哲¹ 曾文容¹ 宋超¹ 吴进¹

【摘要】 目的 观察热疗联合特异性 siRNA 沉默趋化因子受体 4(chemokine receptor 4, CXCR4)对骨肉瘤增殖和侵袭的影响。**方法** 培养人骨肉瘤细胞株 MG-63 至对数生长期,接种于 6 孔板中,分为三组,空白组细胞不进行任何处理常规培养,control siRNA 组以 control siRNA 转染细胞,CXCR4 siRNA 组以 CXCR4 siRNA 转染细胞,采用 Western blot 检测各组 CXCR4 的表达变化,评估 CXCR4 siRNA 转染效能。细胞及体内实验设置 control siRNA 组(对照组)、热疗联合 CXCR4 siRNA 组(联合组)、CXCR4 siRNA 组(沉默组)和热疗组,以 CXCR4 siRNA 转染沉默组和联合组的细胞,control siRNA 转染对照组细胞,热疗组和联合组进行热疗处理。采用实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)和 Western blot 检测各组细胞 CXCR4 的表达变化。CCK-8 法和 Transwell 侵袭实验检测转染后 MG-63 细胞的增殖能力和侵袭能力变化。流式细胞技术检测转染后 MG-63 细胞的周期变化。体外裸鼠成瘤实验和肿瘤生长曲线观察转染后 MG-63 细胞增殖和裸鼠骨肉瘤生长情况。**结果** CXCR4 siRNA 可以有效沉默 MG-63 细胞中 CXCR4 蛋白的表达。热疗联合 CXCR4 siRNA 有效沉默 MG-63 细胞中 CXCR4 的表达并能抑制 MG-63 细胞增殖和侵袭,阻滞细胞周期于 G0/G1 期(P 均 < 0.05)。体内实验结果显示,从第 14 天起,联合组裸鼠骨肉瘤体积逐渐小于对照组、沉默组和热疗组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。联合组的瘤重也低于对照组、沉默组和热疗组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。**结论** 热疗联合特异性沉默 CXCR4 抑制骨肉瘤的增殖和侵袭,可作为一个有效的骨肉瘤基因治疗新方法。

【关键词】 骨肉瘤;CXCR4;细胞增殖;侵袭

Synergistic effect of hyperthermia combined with chemokine receptor 4 knockdown on proliferation and invasion of osteosarcoma. CHEN Zhi-da¹, ZHONG Yuan-fu¹, CHEN Yun-ping², ZENG Yu-zhe¹, ZENG Wen-rong¹, SONG Chao¹, WU Jin¹. ¹Orthopaedic Center of People's Liberation Army, the 909th Hospital of PLA, Zhangzhou 363000, China; ²Department of Oncology, the 910th Hospital of PLA, Quanzhou 362000, China

Corresponding author: WU Jin, E-mail: wujin1983@xmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To detect the synergistic effect of hyperthermia combined with chemokine receptor 4 (CXCR4) knockdown on the proliferation and invasion of osteosarcoma. **Methods** Osteosarcoma cells (human osteosarcoma cell line MG-63) were divided into three groups. The blank group cells were cultured without any treatment. The control siRNA group cells were transfected with control siRNA, and the CXCR4 siRNA group cells were transfected with CXCR4 siRNA. Western blotting was used to detect the expression of CXCR4 in each group and the transfection efficiency of CXCR4 siRNA was evaluated. The cell and *in vivo* experiments were set up with control siRNA group, hyperthermia combined with CXCR4 siRNA group, CXCR4 siRNA group and hyperthermia group. Cells in CXCR4 siRNA group and hyperthermia combined with CXCR4 siRNA group were transfected with CXCR4 siRNA. The control siRNA group was transfected with control siRNA. Hyperthermia group and hyperthermia combined with CXCR4 siRNA group were treated with hyperthermia. CXCR4 expression was detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and Western blotting. CCK-8 method was used to detect the proliferation of MG-63 cells after transfection. Transwell invasion method was used to detect the invasion ability of MG-63 cells after transfection. Flow cytometry was used to detect the cell cycle effect of MG-63 cells after transfection. *In vitro* nude mice tumor

DOI:10.3969/j.issn.1674-8573.2020.02.010

基金项目:国家自然科学基金(81402217);漳州市自然科学基金(ZZ2018J10)

作者单位:1. 中国人民解放军联勤保障部队第九〇九医院全军骨科中心,福建漳州 363000;2. 中国人民解放军联勤保障部队第九一〇医院肿瘤科,福建泉州 362000

通信作者:吴进, E-mail: wujin1983@xmu.edu.cn

formation experiment and tumor growth curve were used to detect the osteosarcoma cell proliferation and nude mouse osteosarcoma growth after transfection. **Results** CXCR4 siRNA could effectively silence the expression of CXCR4 in MG-63 cells. Hyperthermia combined with CXCR4 could effectively silence the expression of CXCR4 in osteosarcoma, inhibit the proliferation and invasion of osteosarcoma cells, and block the cell cycle at G0/G1 phase (all $P < 0.05$). The volume of osteosarcoma in nude mice treated with hyperthermia combined with CXCR4 siRNA was gradually decreased as compared with that in control siRNA group, CXCR4 siRNA group and hyperthermia group from the 14th day (all $P < 0.05$). The tumor weight of hyperthermia combined with CXCR4 siRNA group was also significantly reduced as compared with that in control siRNA group, CXCR4 siRNA group and hyperthermia group ($P < 0.05$). **Conclusion** The findings suggest that hyperthermia combined with CXCR4 knockdown can inhibit the proliferation and invasion of osteosarcoma, which may therefore serve as a new effective gene therapeutic target for osteosarcoma.

[Key words] Osteosarcoma; CXCR4; Cell proliferation; Invasion

骨肉瘤是好发于儿童及青少年的恶性原发性骨肿瘤,具有较高的局部侵袭及远处转移率^[1,2]。尽管近年来采用外科手术辅助化疗的治疗方案取得了一定进展,但病人的5年生存率也仅为55%~60%,约30%~40%的病人出现肺和骨骼转移^[3]。因此,急需寻求有效的治疗靶点以突破骨肉瘤治疗和预后的瓶颈^[4]。

有研究证实,趋化因子受体4(chemokine receptor 4, CXCR4)在多种肿瘤细胞中高表达,并在其增殖和迁移中发挥重要作用,而在相应来源的正常细胞中不表达^[5-8]。热疗已被应用于许多肿瘤放化疗的辅助治疗。随着分子生物学技术的发展和运用,热疗被认为是某些基因治疗的增强剂^[9-11]。然而,目前关于热疗联合特异性沉默CXCR4对骨肉瘤细胞影响的研究较少。本研究通过特异性siRNA沉默CXCR4的表达,同时联合热疗观察其在骨肉瘤增殖和侵袭中的协同作用,初步探讨可能的调控机制。

材料与方法

一、实验动物、材料、试剂及仪器

雌性无胸腺BALB/c裸鼠(4~6周),体重为15~20 g,由厦门大学实验动物中心提供,并在无特定病原体级实验室独立通气系统内饲养。人骨肉瘤细胞株MG-63购自中国科学院细胞库。DMEM培养基和胎牛血清(FBS)购自美国Gibco公司,CCK-8试剂盒购自日本Dojindo公司,细胞裂解液购自美国Invitrogen公司,CXCR4和GAPDH抗体购自英国Abcam公司,siRNA购自美国Sigma公司,Matrigel胶购自美国BD公司,ECL显色试剂盒均购自美国Millipore公司。免疫荧光试剂盒购自美国Focus公司。实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)所需的引物设计由上海生工生物技术有限公司完成。GeneAmp 2400

PCR仪购自美国ABI公司,HH-2-恒温水浴锅购自常州万科仪器科技有限公司,M200多功能酶标仪购自瑞士Tecan公司,凝胶成像系统购自美国Alpha Innotech公司。

二、实验方法

(一)细胞培养及转染

将MG-63细胞接种于DMEM培养基(含15% FBS、100 U/ml青霉素和100 mg/L链霉素)培养,并置于37℃、5% CO₂孵育箱中培养,3~4 d传代。取对数生长期的MG-63细胞制成细胞悬液(1×10^6 个/ml)。

预先进行转染效能检测,将细胞悬液500 μ l接种于6孔板中,待细胞密度达80%时,应用CXCR4 siRNA转染细胞,同时设置control siRNA组和空白组(不转染任何试剂)。转染24 h后采用Western blot检测CXCR4的表达变化。

完成转染效能检测后,将细胞接种于6孔板中,设置control siRNA组(对照组)、热疗联合CXCR4 siRNA组(联合组)、CXCR4 siRNA组(沉默组)和热疗组,每组3孔。以CXCR4 siRNA转染沉默组和联合组的细胞,control siRNA转染对照组细胞,热疗组和联合组进行热疗处理。联合组转染24 h后进行热疗,热疗的操作方法为将细胞置于43℃水浴加热1 h。各组细胞放入37℃、5% CO₂孵育箱中继续培养。

(二)RT-qPCR检测mRNA的表达

干预24 h后收集各组的细胞,采用Trizol试剂分别裂解并提取总RNA,参照逆转录试剂盒说明书合成cDNA,CXCR4正向引物序列为5'-CGGAATTC-CAGCAGGTAGCAAAGTGACG-3',反向引物序列为5'-GACGCCAACATAGACCACCT-3'。反应体系:0.5 μ l cDNA模板,7.5 μ l DEPC水,10.0 μ l SYBR Green染料,上下游引物各1.0 μ l,共计20 μ l。反应条件:预变性94℃ 4 min;变性94℃ 45 s;退火54℃ 45 s;延伸72℃ 45 s,循环30次。用 β -actin作为内

参,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的值表示目的基因的mRNA表达水平。

(三)Western blot检测蛋白的表达

MG-63细胞经不同分组处理24 h后,取 $5\times 10^7\sim 6\times 10^7$ 个对数生长期细胞,采用4℃预冷的细胞裂解液裂解细胞30 min后,4℃下15 000 r/min离心10 min。取上清液,用二喹可酸法测定蛋白浓度后,将样品置于沸水浴5 min,加样,行12% SDS-PAGE电泳2 h,电转膜仪30 V湿法转膜1.5 h。用含5% PBST室温孵育1 h,分别用CXCR4和GAPDH抗体孵育,4℃过夜。以PBST冲洗3次(10 min/次),分别加入相对应的二抗室温孵育1.5 h。用PBST洗涤3次(10 min/次),采用ECL显色法显影,内参为GAPDH,用凝胶成像分析软件分析条带灰度。各组目的蛋白的相对表达水平=目的蛋白的灰度值/GAPDH的灰度值。

(四)CCK-8法检测细胞存活率

取100 μ l细胞悬液(3×10^3 个/ml)均匀接种于96孔培养板中,每组设6个复孔,以无血清培养基培养12 h后,各组采用和上述步骤相同的方式干预细胞。培养箱继续培养96 h后,加入CCK-8试剂10 μ l/孔,继续孵育1 h后终止培养,在酶联免疫检测仪上测定各孔450 nm波长处的吸光度值,比色时以空白对照孔调零。细胞存活率=实验组吸光度值/阳性对照吸光度值 $\times 100\%$ 。

(五)Transwell侵袭实验检测细胞侵袭能力

MG-63细胞分组处理24 h后,将Transwell小室放入24孔板中,每孔设置3个复孔,取50 μ l/孔融解的Matrigel胶与无血清培养基混合后均匀加入Transwell小室底部中,4℃下风干,37℃培养箱孵育2~4 h。将贴壁细胞生长至对数生长期消化,制成无血清单细胞悬液(2×10^5 /孔),均匀加入上室中,在下室加入600 μ l含10% FBS培养基中继续培养24~48 h,取出小室,PBS清洗3次后,用多聚甲醛进行固定,结晶紫进行染色。用棉签小心擦拭小室内部残余的Matrigel胶和细胞,光学显微镜下镜检计数。

(六)流式细胞仪检测细胞周期

取不同分组的MG-63细胞处理24 h后,经0.125%的胰酶消化后,收集单细胞悬液,调成密度为 1×10^6 个/ml,用4℃ PBS洗脱2次,置于37℃、5% CO₂孵育箱中培养30 min,碘化丙啶单染法进行细胞周期检测。然后在流式细胞仪进行检测,采用Cell Quest软件分析各组的细胞周期的变化。

(七)裸鼠成瘤实验

实验动物选取48只BALB/c裸鼠(雌性,6~8

周),随机分为4组(联合组、沉默组、热疗组、对照组),每组12只。取对数生长期的MG-63细胞,用0.02% EDTA和0.125%的胰蛋白酶联合消化,收集细胞用无血清 α -MEM定容。按细胞密度为 1×10^5 个/ml接种500 μ l于裸鼠的左后肢背侧。MG-63骨肉瘤荷瘤裸鼠模型建立后,联合组将裸鼠全麻(2%的戊巴比妥钠溶液按体重40 μ g/g腹腔注射),将负瘤肢体浸入43℃水浴中1 h,同时以风扇降温以减少全身热反应对实验的影响;热疗2 d后,注射CXCR4 siRNA。对照组只注射control siRNA;热疗组只进行热疗,方法同联合组;沉默组只注射CXCR4 siRNA,不进行热疗。给予处理后,每天观察裸鼠状态,每周测量肿瘤的长度(L)和宽度(W),计算肿瘤体积,绘制生长曲线。按如下公式计算肿瘤体积:肿瘤体积= $L\times W^2/2$ 。5周后处死裸鼠,称量移植瘤重量。

三、统计学方法

采用SPSS 20.0软件(IBM公司,美国)对结果进行统计学分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、CXCR4 siRNA抑制CXCR4表达

Western blot结果见图1,空白组、control siRNA组和CXCR4 siRNA组MG-63细胞CXCR4蛋白的相对表达水平分别为 1.00 ± 0.04 、 0.98 ± 0.03 和 0.44 ± 0.05 ,CXCR4 siRNA组可以有效沉默MG-63细胞中CXCR4蛋白的表达,明显低于其在空白组和control siRNA组中的表达,差异均有统计学意义(P 均 < 0.05)。

二、热疗联合CXCR4 siRNA抑制CXCR4表达

RT-qPCR结果提示对照组、联合组、沉默组、热疗组的CXCR4 mRNA的表达量分别为 1.00 ± 0.04 、 0.37 ± 0.03 、 0.63 ± 0.04 和 0.71 ± 0.02 ;热疗联合CXCR4 siRNA可以有效沉默MG-63细胞中CXCR4 mRNA

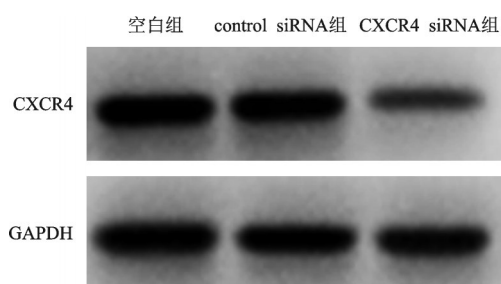


图1 Western blot检测CXCR4蛋白的表达

的表达,明显低于其他三组中的表达,差异均有统计学意义(P 均 <0.05 ,图2)。Western blot 检测结果也同样证实了联合组中 CXCR4 蛋白的表达量显著低于其他三组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05 ,图3)。

三、热疗联合 CXCR4 siRNA 表达对骨肉瘤细胞增殖的影响

CCK-8 结果见图4,对照组、联合组、沉默组和热疗组 MG-63 细胞的存活率分别为 $(100.00\pm 7.33)\%$ 、 $(39.94\pm 2.86)\%$ 、 $(69.07\pm 4.61)\%$ 和 $(66.53\pm 3.20)\%$;与对照组、沉默组和热疗组相比,联合组的骨肉瘤细胞存活率明显降低,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。

四、热疗联合 CXCR4 siRNA 对骨肉瘤细胞侵袭能力的影响

Transwell 侵袭实验结果显示,对照组、联合组、沉默组和热疗组的侵袭细胞数分别为 (215.41 ± 18.93) 个、 (44.56 ± 18.53) 个、 (86.56 ± 17.75) 个和 (84.74 ± 9.57) 个,联合组的侵袭细胞数均显著低于

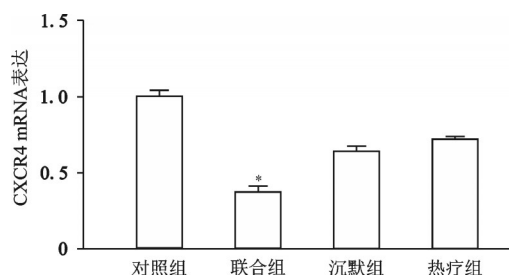


图2 RT-qPCR 检测 CXCR4 mRNA 在 MG-63 细胞中的表达(与其他三组比较,* P 均 <0.05)

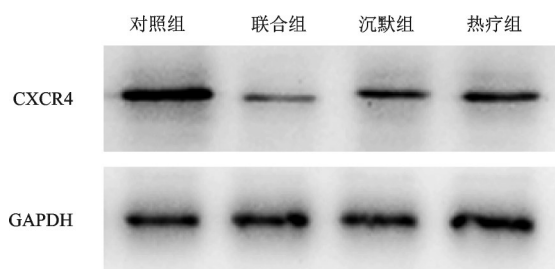


图3 Western blot 检测结果

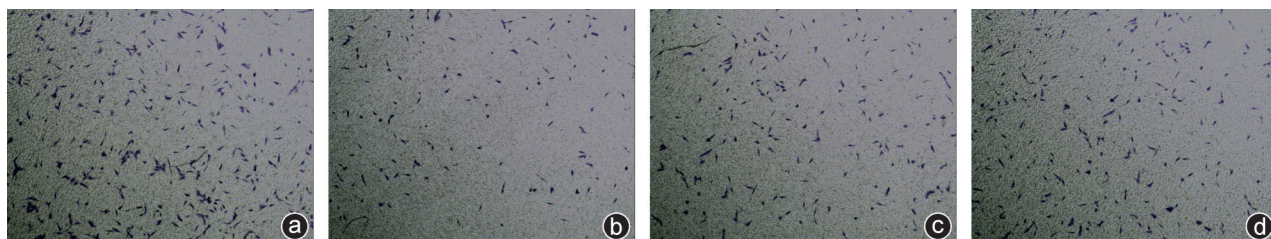


图5 热疗联合沉默 CXCR4 对骨肉瘤细胞侵袭的影响 a:对照组;b:联合组;c:沉默组;d:热疗组

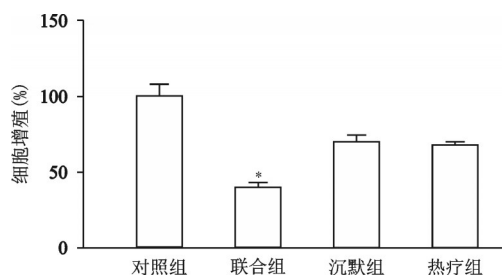


图4 CCK-8 检测 MG-63 细胞增殖的结果(与其他三组比较,* P 均 <0.05)

对照组、沉默组和热疗组(P 均 <0.05 ,图5)。

五、热疗联合 CXCR4 siRNA 对骨肉瘤细胞周期的影响

流式细胞仪结果见图6,对照组细胞 G0/G1 期比例为 $(34.78\pm 2.26)\%$,S 期比例为 $(55.84\pm 2.72)\%$;联合组细胞 G0/G1 期比例为 $(71.13\pm 3.52)\%$,S 期比例为 $(25.37\pm 2.62)\%$;沉默组细胞 G0/G1 期比例为 $(47.45\pm 2.54)\%$,S 期比例为 $(47.40\pm 3.51)\%$;热疗组细胞 G0/G1 期比例为 $(43.43\pm 3.72)\%$,S 期比例为 $(46.38\pm 1.38)\%$ 。与对照组、沉默组和热疗组相比,联合组可阻滞 MG-63 细胞周期于 G0/G1 期并减少 S 期细胞的比例。

六、热疗联合 CXCR4 siRNA 对裸鼠骨肉瘤生长的影响

体内实验结果显示,从第14天起,联合组裸鼠骨肉瘤体积逐渐小于对照组、沉默组和热疗组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05 ,图7)。5周后处死裸鼠,对照组、联合组、沉默组和热疗组的瘤重分别为 (1.62 ± 0.11) g、 (0.38 ± 0.03) g、 (0.57 ± 0.08) g和 (0.62 ± 0.14) g,联合组瘤重低于对照组、沉默组和热疗组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。

讨 论

CXCR4 是一组促炎化学介质,主要通过结合靶细胞细胞膜表面上特异性的 G 蛋白受体,从而起到调控细胞运动黏附、穿越内皮细胞及向组织间隙扩散的过程^[12]。在趋化因子中,基质衍生因子-1(stro-

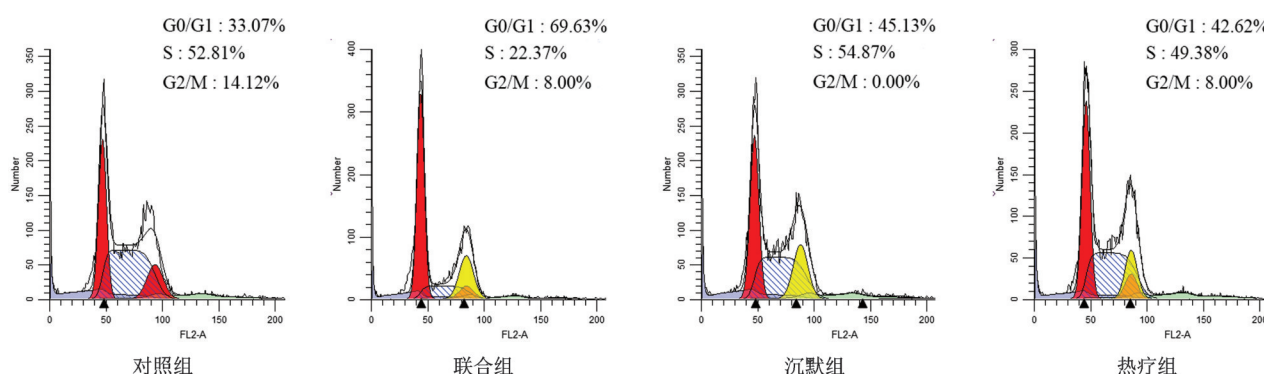
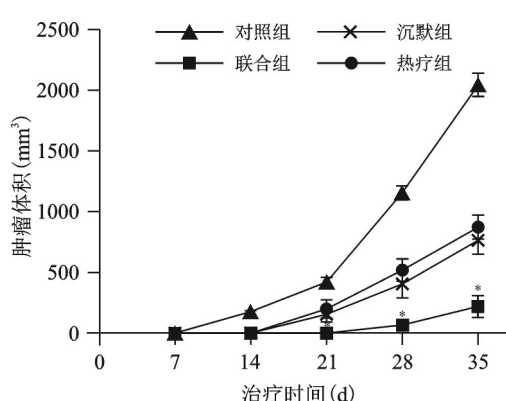


图6 流式细胞仪检测热疗联合沉默CXCR4对骨肉瘤MG-63细胞周期的影响

图7 裸鼠骨肉瘤生长折线图(与其他三组比较,* P 均 <0.05)

mal derived factor, SDF-1)在调控肿瘤干细胞与胚胎干细胞迁移及生长中起着重要的作用,并能高度地特异结合其唯一受体CXCR4^[13]。SDF-1/CXCR4的主要作用包括诱导细胞运动、趋化反应、黏附、分泌血管生成因子,最初主要集中在HIV感染的发病机制,最近已被证明是多种肿瘤转移过程中的关键因素之一,包括卵巢癌、乳腺癌、前列腺癌、肝癌和膀胱癌^[14-17]。进一步的研究发现其在非小细胞肺癌、宫颈癌、乳腺癌等多种肿瘤细胞系和肿瘤组织中高表达,而在相应来源的正常细胞和组织中通常不表达或低表达^[18]。CXCR4与骨肉瘤的关系也一直是一个研究热点。Lu等^[19]通过抑制CXCR4/SDF-1通路阻止骨肉瘤细胞的转移,证明CXCR4/SDF-1参与骨肉瘤的转移过程。Laverdiere等^[20]在骨肉瘤标本中检测到CXCR4的mRNA表达水平增高与病人总生存率降低相关,他们认为CXCR4可以作为骨肉瘤转移的潜在预测因子。Perissinotto等^[21]发现CXCR4可能是化疗药物的潜在靶点,CXCR4拮抗剂消除了骨肉瘤的肺转移。以上研究表明,CXCR4在肿瘤转移中起着关键作用,使其成为肿瘤基因治疗的新靶点。

癌细胞对热疗的抵抗力普遍较低,热疗被认为

是继手术、放疗、化疗和生物治疗之后的第五种肿瘤治疗方法。据报道某些转移相关基因如血管内皮生长因子、膜型1-基质金属蛋白酶等的表达均能被高温抑制^[22,23]。此外,热疗还可以抑制肿瘤生长和淋巴结转移^[24]。热疗广泛应用于骨肉瘤的研究和治疗,以往的研究表明,高温可诱导体外骨肉瘤细胞凋亡,改变骨肉瘤细胞的生物活性^[25]。因此,热疗是治疗骨肉瘤的一种有效的方法。放疗或化疗与热疗相结合已被广泛应用于癌症治疗。目前,关于热疗和siRNA联合作用于肿瘤细胞的报道还很少。为了证实热疗和特异性siRNA沉默CXCR4对人骨肉瘤细胞的联合作用,以及热疗是否可以作为基因治疗的增强剂,我们通过RT-qPCR、Western blot检测人骨肉瘤细胞在高温和转染siRNA后的生长和侵袭能力,结果表明联合组可以有效沉默MG-63细胞中CXCR4 mRNA的表达,明显低于其在对照组、沉默组和热疗组中的表达。进一步的实验结果表明热疗联合CXCR4 siRNA抑制骨肉瘤细胞增殖和裸鼠骨肉瘤生长,阻滞细胞周期于G0/G1期。体内实验结果显示,从第14天起,联合组裸鼠骨肉瘤体积逐渐小于对照组、沉默组和热疗组。接种5周后,联合组瘤重为 (0.38 ± 0.03) g,低于其他三组。这说明热疗联合特异性沉默CXCR4抑制了骨肉瘤增殖和侵袭。

综上所述,CXCR4作为癌基因参与了骨肉瘤增殖和侵袭恶性表型,热疗联合特异性沉默CXCR4能够抑制骨肉瘤的增殖和侵袭。但本研究尚缺乏深入的CXCR4相关分子机制及信号通路的研究。随着研究的不断深入,CXCR4可能作为一个有效的骨肉瘤基因治疗新方法。

参 考 文 献

- [1] Schwab JH, Springfield DS, Raskin KA, et al. What's new in primary bone tumors[J]. J Bone Joint Surg Am, 2012, 94(20): 1913-

- 1919.
- [2] 陈志达, 叶文斌, 曾文容, 等. 沉默Herg1的表达对骨肉瘤增殖和侵袭的影响[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(5): 338-345.
 - [3] Luetke A, Meyers PA, Lewis I, et al. Osteosarcoma treatment-where do we stand? A state of the art review[J]. Cancer Treat Rev, 2014, 40(4): 523-532.
 - [4] Tan ML, Choong PF, Dass CR. Osteosarcoma: conventional treatment vs. gene therapy[J]. Cancer Biol Ther, 2009, 8(2): 106-117.
 - [5] Lefort S, Thuleau A, Kieffer Y, et al. CXCR4 inhibitors could benefit to HER2 but not to triple-negative breast cancer patients[J]. Oncogene, 2017, 36(9): 1211-1222.
 - [6] 尹东, 张佐, 高素, 等. 趋化因子受体CXCR4及其配体CXCL12在口腔鳞状细胞癌细胞增殖和迁移中的作用[J]. 华西口腔医学杂志, 2013, 31(1): 8-12.
 - [7] 宫晨, 李冕, 姚斌, 等. 趋化因子受体4在普通型骨肉瘤中的表达及意义[J]. 骨科, 2012, 3(3): 117-119.
 - [8] Su H, Sobrino Najul EJ, Toth TA, et al. Chemokine receptor CXCR4-mediated transformation of mammary epithelial cells by enhancing multiple RTKs expression and deregulation of the p53/MDM2 axis[J]. Cancer Lett, 2011, 307(2): 132-140.
 - [9] Shido Y, Nishida Y, Suzuki Y, et al. Targeted hyperthermia using magnetite cationic liposomes and an alternating magnetic field in a mouse osteosarcoma model[J]. J Bone Joint Surg Br, 2010, 92(4): 580-585.
 - [10] Hou CH, Lin FL, Hou SM, et al. Hyperthermia induces apoptosis through endoplasmic reticulum and reactive oxygen species in human osteosarcoma cells[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(10): 17380-17395.
 - [11] Saliev T, Feril LB Jr, Begimbetova D, et al. Hyperthermia enhances bortezomib-induced apoptosis in human white blood cancer cells[J]. J Therm Biol, 2017, 67: 9-14.
 - [12] 姚斌, 夏冰, 卞峰, 等. CXCR4在骨肉瘤中的表达和临床意义[J]. 中华全科医学, 2014, 12(1): 12-14.
 - [13] Nagashima K, Takagi R, Hoshina H. Effect of local hyperthermia on metastases in oral squamous cell carcinoma[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2002, 31(1): 84-89.
 - [14] Guo Q, Gao BL, Zhang XJ, et al. CXCL12-CXCR4 axis promotes proliferation, migration, invasion, and metastasis of ovarian cancer[J]. Oncol Res, 2014, 22(5-6): 247-258.
 - [15] Xu C, Zhao H, Chen H, et al. CXCR4 in breast cancer: oncogenic role and therapeutic targeting[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 4953-4964.
 - [16] 张婕, 刘斌雅, 齐聪. CXCL12-CXCR4/CXCR7趋化因子轴在肿瘤中的研究进展[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2014(4): 769-774.
 - [17] Shah AD, Bouchard MJ, Shieh AC. Interstitial fluid flow increases hepatocellular carcinoma cell invasion through CXCR4/CXCL12 and MEK/ERK signaling[J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0142337.
 - [18] Levina V, Su Y, Nolen B, et al. Chemotherapeutic drugs and human tumor cells cytokine network[J]. Int J Cancer, 2008, 123(9): 2031-2040.
 - [19] Lu Y, Hu B, Guan GF, et al. SDF-1/CXCR4 promotes F5M2 osteosarcoma cell migration by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Med Oncol, 2015, 32(7): 194.
 - [20] Laverdiere C, Hoang BH, Yang R, et al. Messenger RNA expression levels of CXCR4 correlate with metastatic behavior and outcome in patients with osteosarcoma[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(7): 2561-2567.
 - [21] Perissinotto E, Cavalloni G, Leone F, et al. Involvement of chemokine receptor 4/stroma derived factor 1 system during osteosarcoma tumor progression[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(2 Pt 1): 490-497.
 - [22] Liang X, Zhou H, Liu X, et al. Effect of local hyperthermia on lymphangiogenic factors VEGF-C and -D in a nude mouse xenograft model of tongue squamous cell carcinoma[J]. Oral Oncol, 2010, 46(2): 111-115.
 - [23] Sawaji Y, Sato T, Seiki M, et al. Heat shock-mediated transient increase in intracellular 3', 5'-cyclic AMP results in tumor specific suppression of membrane type 1-matrix metalloproteinase production and progelatinase A activation[J]. Clin Exp Metastasis, 2000, 18(2): 131-138.
 - [24] Nagashima K, Takagi R, Hoshina H. Effect of local hyperthermia on metastases in oral squamous cell carcinoma[J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2002, 31(1): 84-89.
 - [25] Rong Y, Mack P. Apoptosis induced by hyperthermia in Dunn osteosarcoma cell line in vitro[J]. Int J Hyperthermia, 2000, 16(1): 19-27.

(收稿日期: 2019-08-30)

(本文编辑: 龚哲妮)

本文引用格式

陈志达, 钟渊福, 陈云萍, 等. 热疗联合特异性沉默趋化因子受体4对骨肉瘤增殖和侵袭的影响[J]. 骨科, 2020, 11(2): 143-148.
DOI: 10.3969/j.issn.1674-8573.2020.02.010.