

文章编号:1000-5404(2012)10-0943-05

论著

Syntenin 上调 FAK 磷酸化水平促进人脑胶质瘤细胞迁移的分子机制

冉建华¹, 钟东², 谭云², 陈贵杰², 李小松¹, 张晓冬² (400016 重庆, 重庆医科大学神经科学研究中心¹, 重庆医科大学附属第一医院神经外科²)

[摘要] **目的** 探讨 Syntenin 促进人脑胶质瘤细胞迁移的分子机制。**方法** 采用划痕实验和 Western blot 检测 CHG-5、稳定表达人源性 Syntenin 的 CHG-hS 细胞在纤维连接蛋白 (fibronectin, FN) 和多聚赖氨酸 (Poly-L-lysine, PL) 两种基质表面迁移能力、FAK 磷酸化位点及相关信号分子的变化情况;分别在 P38MAPK 特异性抑制剂 SB239063 和 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 处理后, FN 基质上 CHG-5、CHG-hS 细胞迁移能力和下游信号分子 JNK 和 AKT 磷酸化水平的改变。**结果** 细胞划痕实验结果显示, CHG-hS 细胞在 FN 表面的运动能力显著高于 CHG-5 细胞 ($P < 0.05$);而在多聚赖氨酸包被的培养板上, CHG-hS 细胞的运动能力与 CHG-5 组细胞表面无显著性差异 ($P > 0.05$)。Western blot 检测结果显示, FN 作用下 CHG-hS 细胞中 FAK Tyr397、FAK Tyr576、FAK Tyr925 位点的磷酸化水平随时间延长而逐渐升高 ($P < 0.05$), 而 FAK Tyr861 位点的磷酸化水平没有变化 ($P > 0.05$);相关信号 Src、JNK、AKT 的磷酸化水平也随时间延长而升高 ($P < 0.05$)。分别采用 SB239063 和 LY294002 处理后, 伴随着 p-JNK 和 p-AKT 的磷酸化水平减弱, CHG-hS 迁移能力下降。**结论** Syntenin 通过与 p-Src 结合, 随后触发 FAK Tyr397、FAK Tyr925、FAK Tyr576 位点的磷酸化作用, 最大程度的激活 FAK 并上调 JNK、AKT 等下游信号分子的磷酸化水平, 最终通过 Syntenin-Src/FAK/MAPK 和 Syntenin-Src/FAK/PI3K 两条通路增强 FN 相关胶质瘤细胞的迁移能力。

[关键词] 胶质瘤; Syntenin; 分子机制

[中图分类号] R394.3; R73-37; R739.41

[文献标志码] A

Molecular mechanism of Syntenin promoting human glioma cell migration through upregulating FAK phosphorylation

Ran Jianhua¹, Zhong Dong², Tang Yun², Chen Guijie², Li Xiaosong¹, Zhang Xiaodong² (¹Neuroscience Research Center, ²Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the molecular mechanism of Syntenin promoting human glioma cell migration. **Methods** The migration ability tests of CHG-5 cells (human glioma cell line) and CHG-hS cells (CHG-5 stably expression human Syntenin) on fibronectin (FN) and poly-L-lysine (PL) were performed by scratch wound assay. FAK phosphorylation and activation of its relative signal molecules JNK, AKT and Src were detected by Western blotting. After CHG-hS and CHG-5 cells were treated with P38 MAPK specific inhibitor SB239063 and PI3K specific inhibitor LY294002, respectively, the migration ability of the cells on FN was investigated by scratch wound assay and the phosphorylation levels of JNK and AKT were detected by Western blotting. **Results** The result of scratch wound assay showed that the migration ability of the CHG-hS cells on FN-coated plates was significantly higher than that of the CHG-5 cells ($P < 0.05$), while the migration ability of the CHG-hS cells on PL-coated plates showed no significant difference compared with that of the CHG-5 cells ($P > 0.05$). Western blot analysis showed that the phosphorylation levels of FAK phosphorylation sites (Tyr397, Tyr576, Tyr925, but not Tyr861) and FAK-related signal molecules (phosphor-Src, phosphor-JNK and phosphor-AKT) in the CHG-hS cells on FN increased in a time-dependent manner ($P < 0.05$). The migration ability of the CHG-hS cells decreased along with the reduced levels of phosphor-JNK and phosphor-AKT

[通信作者] 钟东, 电话: (023)89012163

after treated with SB239063 and LY294002, respectively. **Conclusion** Syntenin specifically interacting with p-Src promotes the phosphorylation of FAK Tyr397, Tyr925 and Tyr576, which activates FAK to a maximum extent and upregulates the phosphorylation levels of downstream signal molecules such as JNK and AKT, and finally promotes FN-related glioma cell migration through the Syntenin-Src/FAK/MAPK and Syntenin-Src/FAK/PI3K pathways.

[**Key words**] glioma; Syntenin; molecular mechanism

Corresponding author: Zhong Dong, Tel: 86-23-89012163

Syntenin, 又名黑色素瘤分化相关因子, 其通过 PDZ 结合域与上下游信号转导分子相互作用, 在细胞外信号向细胞内传递的过程中发挥重要作用^[1-2]。目前的研究发现, Syntenin 在黑色素瘤, 消化道恶性肿瘤和转移性乳腺癌等多种肿瘤中过度表达, 并且表达水平与肿瘤的恶性程度和临床进展有密切关系; Syntenin 与黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 的共表达可促进黑色素瘤的转移^[3-5]。本课题组报道了 Syntenin 在脑胶质瘤组织中的表达水平上调, 并与脑胶质瘤组织的恶性程度密切相关, 胶质瘤细胞中 Syntenin 可能通过与 FAK 相互作用调控黏着斑解聚与形成、细胞骨架的收缩与重组等过程, 增加胶质瘤细胞的迁移和侵袭能力^[6]。然而, 迄今为止国内外尚缺乏 Syntenin 促进胶质瘤细胞迁移分子机制的报道。为此, 我们建立了稳定表达 hSyntenin 的 CHG-hS 细胞系^[7], 利用该细胞系研究 Syntenin 表达对于人脑星形胶质瘤细胞系 CHG-5 迁移能力的影响及相应的分子机制。

1 材料与方 法

1.1 细胞系

CHG-5 细胞为人脑星形胶质瘤细胞株, 由第三军医大学西南医院病理学研究所馈赠。通过自行构建人源性 Syntenin 真核表达载体, 脂质体转染并筛选得到稳定表达 hSyntenin 的细胞系 CHG-hS^[7]。

1.2 主要试剂与材料

兔抗人 Syntenin 多克隆抗体与兔抗人磷酸化 FAK Tyr397、Tyr576、Tyr861、Tyr925 多克隆抗体为 Abcam 公司产品, 小鼠抗人 β -actin 单克隆抗体购自 Sigma 公司, 兔抗人 p-Src、p-JNK、p-AKT 多克隆抗体购自博奥森公司, RIPA 裂解液购自碧云天生物技术研究所。纤维连接蛋白 (Fibronectin, FN) 和多聚赖氨酸 (Poly-L-lysine, PL)、P38MAPK 特异性抑制剂 SB239063、PI3K 特异性抑制剂 LY294002、DMSO 均为 Sigma 公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 CHG-5 细胞培养于 RPMI1640 完全培养基 (含 20% 小牛血清, 1×10^5 U/L 青霉素及 100 mg/L 链霉素), CHG-hS 细胞培养于 800 μ g/ml G418 的 RPMI1640 完全培

养基, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 及饱和湿度下常规培养。

1.3.2 划痕实验检测 FN 和多聚赖氨酸作用对 CHG-5 和 CHG-hS 细胞迁移能力的影响 根据文献^[8]报道用 8 μ g/ml 的 FN 和 PL 包被 6 孔板后风干备用, 用 marker 笔在 6 孔板背后均匀划出约 0.5 ~ 1 cm 间隔的横线, 每孔至少穿过 5 条线。胰酶消化对数生长期的细胞, 终止消化后调整细胞密度, 将 3×10^5 个细胞接种到 FN 和多聚赖氨酸包被的 6 孔板, 让细胞均匀贴壁生长。培养过夜后用 200 μ l 枪头在单层细胞上按照预先的标记划线, PBS 冲洗悬浮细胞后加入培养液, 倒置相差显微镜下拍照作为对照 (0 h), 继续培养 12 h 后在镜下对同一部位观察拍照。以两端向划痕中央迁移的最前沿细胞为标记, 算出细胞的迁移率, 比较 FN 和多聚赖氨酸作用下两组细胞迁移能力的变化。

1.3.3 免疫印迹检测 FN 基质表面 CHG-hS 细胞中 FAK 磷酸化水平及相关信号分子的变化 收集 FN 基质表面作用不同时间 (0、30、60、120 min) 的 CHG-5 和 CHG-hS 细胞, 加入 1 ml 预冷的裂解缓冲液 [0.1 mol/L NaCl, 0.01 mol/L Tris. Cl (pH 7.6), 1 mmol/L EDTA (pH 8.0), 1 μ g/ml Aprotinin, 100 μ g/ml 79 PMSF], 混匀后冰浴 30 min, 超声裂解 30 s; 将细胞裂解液移入预冷的 1.5 ml 离心管中, 12 000 \times g, 4 $^{\circ}$ C 离心 30 min, 取上清并测定蛋白浓度^[7]。取 50 μ g 蛋白质上样于 10% SDS-PAGE gels (Invitrogen) 分离; 湿转法将蛋白转至 PVDF 膜; 经 5% 的脱脂牛奶封闭 1 h 后, 分别用 5% BSA/TBST 缓冲液稀释的 FAK 及其磷酸化位点 Tyr397、Tyr576、Tyr861、Tyr925 多克隆抗体 (稀释度为 1:1 500), p-Src、p-JNK、p-AKT 多克隆抗体 (稀释度为 1:1 000), 小鼠抗人 β -actin 单克隆抗体 (稀释度为 1:1 000) 孵育 2 h; TBST 漂洗 3 次, 5% 的脱脂牛奶/TBST 缓冲液稀释的二抗 (浓度为 1:10 000) 孵育 1 h; TBST 漂洗, ECL 避光孵育 15 min 后, 用保鲜膜完全包裹免疫印迹膜, 去除皱褶后固定在暗盒内, 曝光成像。

1.3.4 划痕实验检测 P38MAPK 和 PI3K 特异性抑制剂处理后 CHG-5、CHG-hS 细胞迁移能力的变化 用 8 μ g/ml 的 FN 预先包被 6 孔板和细胞上划线的具体步骤同上^[8], 洗净悬浮细胞后, 在培养基中分别加入 P38MAPK 特异性抑制剂 SB239063 (2 μ g/ml)、PI3K 特异性抑制剂 LY294002 (2 μ g/ml) 和 DMSO (2 μ g/ml) 处理后孵育 12 h, 其余试验步骤同 1.3.2。

1.3.5 免疫印迹检测 P38MAPK 和 PI3K 特异性抑制剂处理后 CHG-5、CHG-hS 细胞中 p-JNK、p-AKT 的变化 在培养基中

分别加入 P38MAPK 特异性抑制剂 SB239063 (2 μg/ml)、PI3K 特异性抑制剂 LY294002 (2 μg/ml) 和 DMSO (2 μg/ml) 作用 1 h 后, 收集细胞总蛋白进行 Western blot 检测, 具体实验步骤同 1.3.3。

1.4 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 11.0 统计学软件进行数据处理, 多个样本均数采用单因素方差分析进行比较, 两组均数比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 FN 和多聚赖氨酸作用对 CHG-5、CHG-hS 细胞迁移能力的影响

在 FN 包被的培养板上, CHG-hS 细胞的迁移能力显著高于 CHG 细胞 29.58% ($P < 0.05$); 而在多聚赖氨酸包被的培养板上, CHG-hS 细胞的迁移能力与 CHG-5 组细胞相近, 二者无显著性差异 ($P > 0.05$), 表明 Syntenin 可增加 CHG-5 细胞的迁移能力, 并且这种作用与特定的基质成分有关 (图 1)。

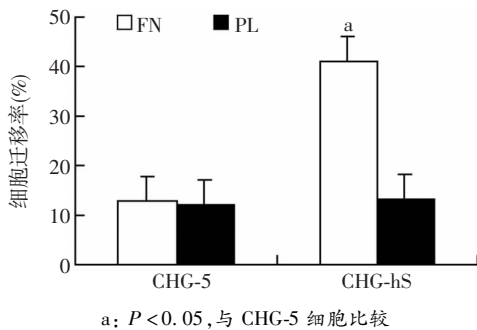


图 1 FN 和多聚赖氨酸作用对 CHG-5、CHG-hS 细胞迁移能力的影响

2.2 FN 作用下 CHG-hS 细胞中 FAK 磷酸化水平及相关信号分子的变化

Western blot 检测 FAK 各磷酸化位点 Tyr397、Tyr576、Tyr861、Tyr925 的变化情况见图 2。随 FN 作用时间的延长, FAK Tyr861 (125×10^3) 变化不明显 ($P > 0.05$); FAK Tyr397 (125×10^3)、FAK Tyr576 (116×10^3)、FAK Tyr925 (123×10^3) 位点的磷酸化水平随时间延长明显升高, 其中 FAK Tyr397 磷酸化水平升高最早且含量较高, 并持续增加到 120 min 达到峰值; FAK Tyr576 磷酸化水平从 60 min 开始持续升高, 120 min 达到峰值; FAK Tyr925 磷酸化水平升高较早但表达较 FAK Tyr397 磷酸化水平稍低, 并持续增高到 120 min 达到峰值 ($P < 0.05$)。由此可见, 在 FN 作用下 CHG-hS 细胞迁移能力的增强可能是通过激活 FAK Tyr397、FAK Tyr576、FAK Tyr925 3 个酪氨酸磷酸化位点实现的。

FAK 相关信号分子磷酸化水平的结果见图 3。在 FN 作用下的不同时间点, p-Src (160×10^3) 磷酸化水平升高最早且含量较高, 并以高表达水平持续 120 min 达到峰值; p-JNK (55×10^3) 磷酸化水平升高早但含量稍低并维持到 120 min; 在 FN 作用的 0 min 到 30 min 未见 p-AKT (60×10^3) 磷酸化条带, 从 60 min 开始到 120 min 可见低水平的 p-AKT 表达 ($P < 0.05$)。以上结果

表明, 在 FN 作用下, Syntenin 激活的 FAK Tyr397、FAK Tyr576、FAK Tyr925 3 个酪氨酸磷酸化位点与 Src、JNK、AKT 等信号分子的磷酸化作用相关。

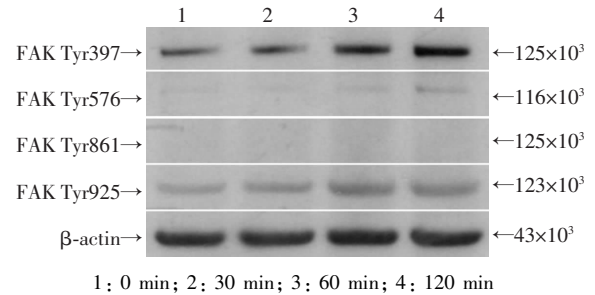


图 2 FN 作用不同时间 CHG-hS 细胞中 FAK 磷酸化位点的表达

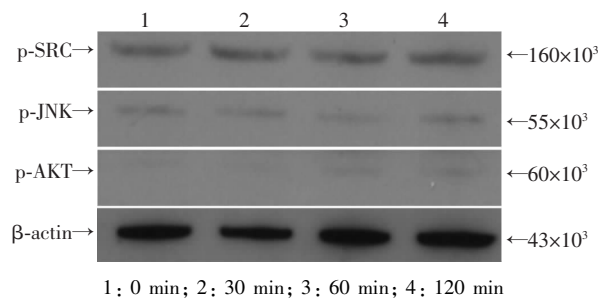


图 3 CHG-hS 在 FN 作用不同时间点 FAK 相关信号的表达

2.3 P38MAPK 和 PI3K 特异性抑制剂作用下 CHG-5、CHG-hS 细胞迁移能力的变化

在 FN 包被培养板上, 细胞培养基中加入 DMSO (2 μg/ml) 对 CHG-hS 细胞的迁移能力无明显影响, CHG-hS 细胞较 CHG-5 细胞的迁移能力高 28.88% ($P < 0.05$); 而在细胞培养基中加入 P38MAPK 特异性抑制剂 SB239063 (2 μg/ml) 后, CHG-hS 细胞的迁移能力受到抑制, 迁移水平明显减弱并且与 CHG-5 细胞无显著性差异 ($P > 0.05$), 表明 Syntenin 触发 FAK 多位点磷酸化作用后, 可能通过 P38MAPK 通路增加细胞的迁移能力 (图 4)。细胞的培养基中加入 DMSO (2 μg/ml) 后, CHG-hS 细胞的迁移能力仍显著高于 CHG-5 细胞 26.9% ($P < 0.05$); 而细胞培养基中加入 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 (2 μg/ml) 后, CHG-hS 细胞的迁移能力明显减弱, 与 CHG-5 组细胞无明显差异 ($P > 0.05$), 提示除了 p38MAPK 通路外, Syntenin 触发 FAK 多位点磷酸化作用后还可经 PI3K 通路增加细胞的迁移能力 (图 5)。

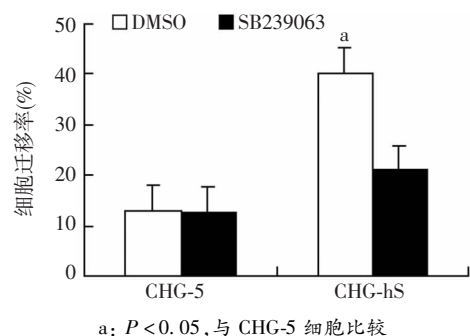


图 4 SB239063 对 CHG-5、CHG-hS 细胞迁移能力的影响

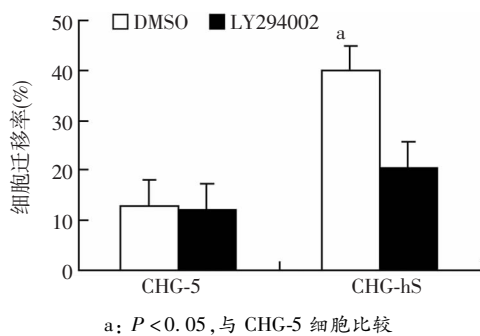
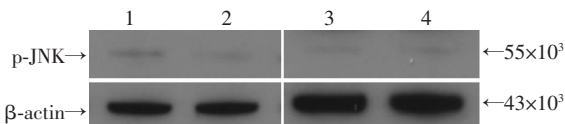


图5 LY294002对CHG-5、CHG-hS细胞迁移能力的影响

2.4 P38MAPK 特异性抑制剂处理后 CHG-5、CHG-hS 细胞中 p-JNK 的变化

P38MAPK 特异性抑制剂 SB239063 (2 $\mu\text{g/ml}$) 和 DMSO (2 $\mu\text{g/ml}$) 分别作用于 CHG-5、CHG-hS 细胞后, Western blot 检测细胞总蛋白结果见图6。与 SB239063 和 DMSO 对 CHG-5 细胞中 p-JNK 水平无明显影响相比 ($P > 0.05$), SB239063 处理导致 CHG-hS 细胞中 p-JNK 的磷酸化水平显著下降约 54.5% ($P < 0.05$); 表明 SB239063 对 CHG-hS 细胞中 p-JNK 磷酸化有明显的抑制效应。

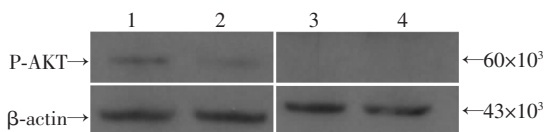


1: CHG-hS-DMSO; 2: CHG-hS-SB239063; 3: CHG-5-DMSO; 4: CHG-5-SB239063

图6 SB239063 处理 CHG-hS 和 CHG-5 后 p-JNK 表达的变化

2.5 PI3K 特异性抑制剂作用下 CHG-5、CHG-hS 细胞中 p-AKT 的变化

PI3K 特异性抑制剂 LY294002 (2 $\mu\text{g/ml}$) 和 DMSO (2 $\mu\text{g/ml}$) 分别作用于 CHG-5、CHG-hS 细胞后, Western blot 检测细胞总蛋白结果见图7。LY294002 和 DMSO 对 CHG-5 细胞中 p-AKT 水平无明显影响 ($P > 0.05$), 而 LY294002 作用可导致 CHG-hS 细胞中 p-AKT 的磷酸化水平显著下降约 64.3% ($P < 0.05$); 提示 LY294002 对 CHG-hS 细胞中 p-AKT 磷酸化作用具有明显的抑制作用。



1: CHG-hS-DMSO; 2: CHG-hS-LY294002; 3: CHG-5-DMSO; 4: CHG-5-LY294002

图7 LY294002 处理 CHG-hS 和 CHG-5 后 p-AKT 表达的变化

3 讨论

细胞黏附和迁移是肿瘤转移的重要环节。粘着斑

与肌动蛋白张力纤维的生成是细胞迁移的原动力^[8]。在神经元和不同类型的肿瘤细胞中, Syntenin 具有重塑肌动蛋白细胞骨架的能力, 可诱导包括皱褶, 片状伪足, 指状突起以及神经突样结构等多种质膜结构的形成^[5,9-12], 提示其可能在肿瘤细胞的黏附和迁移过程中发挥作用。目前的临床研究证实了 Syntenin 在黑色素瘤、转移性乳腺癌和消化道肿瘤、高恶性级别的脑胶质瘤中过度表达, 并且其表达水平与肿瘤的恶性程度和临床进展密切相关^[3-6]。在黑色素瘤细胞中, Syntenin 与 FAK 在黏着斑上共表达并具有相互作用, 通过促进 FAK 的磷酸化, 进而激活 p38 丝裂原激活蛋白激酶 (MAPK)、c-Jun 氨基末端激酶 (JNK)、核因子 κB (NF- κB) 等信号分子, 引起 MMP-2 分泌增加而促进肿瘤细胞的迁移和侵袭^[13]。然而, 目前还缺乏 Syntenin 促进脑胶质瘤细胞迁移分子机制的研究。

纤维连接蛋白 (Fibronectin, FN) 是细胞外基质的主要成分, 其在促进黑色素瘤侵袭过程中具有特异性的诱导作用^[8]。我们在建立了稳定表达 hSyntenin 的 CHG-hS 细胞基础上, 比较了 FN 和多聚赖氨酸两种基质表面 CHG-5、CHG-hS 细胞迁移能力的变化。结果发现, 在 FN 包被的培养板上, CHG-hS 细胞的迁移能力显著高于 CHG-5 细胞 29.58% ($P < 0.05$); 而在多聚赖氨酸包被的培养板上, CHG-hS 细胞的迁移能力与 CHG-5 细胞无显著性差异 ($P > 0.05$), 表明 Syntenin 具有特异性与纤维连接蛋白相互作用的特点, 这与国外学者在不同恶性级别黑色素瘤细胞中的研究结果一致^[5,8]。

研究表明, Syntenin 促进肿瘤细胞的迁移和侵袭主要与 FAK 的磷酸化作用有关^[5]。FAK 的 6 个酪氨酸磷酸化位点 (Tyr397、Tyr407、Tyr576、Tyr577、Tyr861 和 Tyr925) 是其发挥信号转导功能的关键部位。其中, Tyr397 是自主磷酸化位点, 可通过与 Src 家族、p130CAS、磷脂酰肌醇-3 激酶 (phosphatidylinositol-3 kinase, PI3K) p85 亚基等多种含 Src 同源序列 2 (Src homology-2, SH2) 结构域的蛋白质分子结合并进一步磷酸化其余的磷酸化位点, 以最大程度的激活 FAK 并向下游信号转导^[14-18]。在 FN 基质表面 CHG-hS 细胞中 FAK 磷酸化水平及相关信号分子的检测结果提示, Syntenin 可能首先触发 FAK Tyr397、FAK Tyr925 位点的磷酸化作用, 随后磷酸化激酶区高度保守的 Tyr576 位点, 进而磷酸化作用 JNK、AKT 等信号分子, 最终引起增加 CHG-hS 细胞的迁移能力。分别采用

P38MAPK 特异性抑制剂 SB239063 和 PI3K 特异性抑制剂 LY294002 作用于 CHG-5、CHG-hS 细胞后,发现 JNK 和 AKT 的磷酸化水平受到抑制可明显降低 CHG-hS 细胞的迁移能力,提示 Syntenin 触发 FAK 多位点磷酸化作用后可经 p38MAPK 和 PI3K 通路增加细胞的迁移能力。

Boukerche 等^[5,8,13]认为,整合素与 FAK 相互作用引起 FAK 构象的改变使得 FAK Tyr397 位点得以暴露;而 Syntenin 的表达增加后激活 c-Src 有利于其与 FAK Tyr397 结合引发 FAK 的自磷酸化作用,随后激活 FAK 其他的磷酸化位点使得 FAK 最大程度的活化,并向后续信号分子进行传递。本项研究中也发现了 p-Src 在 CHG-hS 细胞黏附于 FN 的过程中呈现持续高表达的状态,表明 Syntenin 通过 p-Src 与 FAK 多个磷酸化位点之间的连接和相互作用是 FAK 最大水平激活的关键,影响着后续的信号传递过程。

本项研究结果表明,在脑胶质瘤中,Syntenin-Src/FAK/MAPK 和 Syntenin-Src/FAK/PI3K 两条通路均与 FN 基质上脑胶质瘤细胞迁移运动有关,Syntenin 基因表达上调后,整合素的信号通过 Syntenin 与 FAK 的相互作用放大,并向下游信号有效传递,可能通过增加细胞黏着斑的组装和细胞骨架的应力纤维重组这些与细胞运动有关的微观结构改变,最终引起细胞的迁移能力增加。这一研究结果可为深入理解脑胶质瘤细胞迁移和侵袭的分子机制提供新的思路,也可为脑胶质瘤的靶向分子治疗提供新的途径。

参考文献:

[1] Seya T, Shime H, Ebihara T, *et al.* Pattern recognition receptors of innate immunity and their application to tumor immunotherapy [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(2): 313-320.

[2] Fraser C C. G protein-coupled receptor connectivity to NF-kappaB in inflammation and cancer [J]. *Int Rev Immunol*, 2008, 27(5): 320-350.

[3] Koo T H, Lee J J, Kim E M, *et al.* Syntenin is overexpressed and promotes cell migration in metastatic human breast and gastric cancer cell lines [J]. *Oncogene*, 2002, 21(26): 4080-4088.

[4] Helmke B M, Polychronidis M, Benner A, *et al.* Melanoma metastasis is associated with enhanced expression of the Syntenin gene [J]. *Oncol Rep*, 2004, 12(2): 221-228.

[5] Boukerche H, Su Z Z, Emdad L, *et al.* mda-9/Syntenin: a positive

regulator of melanoma metastasis [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23): 10901-10911.

[6] 钟东,唐文渊,吴海涛,等. Syntenin 在人脑胶质瘤中的表达及其临床意义 [J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(6): 597-600.

[7] 钟东,唐文渊,冉建华,等. 真核表达载体 pEGFP-N1-hSyntenin 的构建及其在人脑胶质瘤细胞 CHG-5 中的表达 [J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(19): 2080-2084.

[8] Boukerche H, Su Z Z, Prevot C, *et al.* mda-9/Syntenin promotes metastasis in human melanoma cells by activating c-Src [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(41): 15914-15919.

[9] Meurice N, Wang L, Lipinski C A, *et al.* Structural conservation in band 4.1, ezrin, radixin, moesin (FERM) domains as a guide to identify inhibitors of the proline-rich tyrosine kinase 2 [J]. *J Med Chem*, 2010, 53(2): 669-677.

[10] Hirbec H, Martin S, Henley J M. Syntenin is involved in the developmental regulation of neuronal membrane architecture [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2005, 28(4): 737-746.

[11] Zimmermann P, Tomatis D, Rosas M, *et al.* Characterization of Syntenin, a syndecan-binding PDZ protein, as a component of cell adhesion sites and microfilaments [J]. *Mol Biol Cell*, 2001, 12(2): 339-350.

[12] Sulka B, Lortat-Jacob H, Terreux R, *et al.* Tyrosine dephosphorylation of the syndecan-1 PDZ binding domain regulates Syntenin-1 recruitment [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(16): 10659-10671.

[13] Boukerche H, Su Z Z, Emdad L, *et al.* mda-9/Syntenin regulates the metastatic phenotype in human melanoma cells by activating nuclear factor-kappaB [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4): 1812-1822.

[14] Skuli N, Monferran S, Delmas C, *et al.* Alphasynectin/alpha5 integrins-FAK-RhoB: a novel pathway for hypoxia regulation in glioblastoma [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(8): 3308-3316.

[15] Lin A H, Eliceiri B P, Levin E G. FAK mediates the inhibition of glioma cell migration by truncated 24 kDa FGF-2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 382(3): 503-507.

[16] Hamadi A, Deramandt T B, Takeda K, *et al.* Src activation and translocation from focal adhesions to membrane ruffles contribute to formation of new adhesion sites [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(2): 324-338.

[17] Lipinski C A, Tran N L, Viso C, *et al.* Extended survival of Pyk2 or FAK deficient orthotopic glioma xenografts [J]. *J Neurooncol*, 2008, 90(2): 181-189.

[18] Hong X, Jiang F, Kalkanis S N, *et al.* Increased chemotactic migration and growth in heparanase-overexpressing human U251n glioma cells [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2008, 27: 23.

(收稿:2012-02-23;修回:2012-03-26)

(编辑 汪勤俭)