

# ADAM17调控Hippo信号转导通路对人脑胶质瘤细胞增殖和迁移的影响

张春利<sup>1</sup> 韩秀<sup>1</sup> 熊二梦<sup>1</sup> 彭琬昕<sup>1</sup> 杜凤仪<sup>1</sup> 周海浪<sup>1</sup> 龚爱华<sup>1,2\*</sup>  
(<sup>1</sup>江苏大学医学院基础医学系, 镇江 212013; <sup>2</sup>癌基因及相关基因国家重点实验室, 上海 200032)

**摘要** 为探讨去整合素-金属蛋白酶17(disintegrin and metalloproteinase 17, ADAM17)对人胶质瘤细胞增殖和迁移的影响及其调控机制, 该研究用ADAM17 shRNA质粒转染ADAM17高表达的胶质瘤细胞U87MG、U251MG, 用过表达ADAM17载体转染ADAM17低表达细胞SW1783, q-PCR和Western blot检测ADAM17表达水平的变化, 同时检测ADAM17和Hippo信号通路中相关蛋白质表达水平, CCK-8法分析细胞增殖能力并绘制生长曲线, 划痕实验检测细胞迁移率。结果表明, 下调ADAM17后, U87MG、U251MG细胞增殖和迁移能力减弱, 而Hippo信号通路中MST2、p-MOB1、p-YAP蛋白表达水平升高; 上调ADAM17后, SW1783细胞增殖和迁移能力增强, 而MST2、p-MOB1、p-YAP蛋白表达水平降低。结果说明, ADAM17在脑胶质瘤细胞的增殖和迁移中发挥了重要作用, 这可能是通过抑制Hippo信号通路来实现的, MST2被抑制, p-MOB1水平降低, 从而YAP的磷酸化水平也降低, 促进了胶质瘤细胞的增殖和迁移。

**关键词** ADAM17; 胶质瘤; Hippo信号通路; 细胞增殖; 细胞迁移

## Effects of ADAM17 on Proliferation and Migration of Human Glioma Cells through Hippo Signaling Pathway

Zhang Chunli<sup>1</sup>, Han Xiu<sup>1</sup>, Xiong Ermeng<sup>1</sup>, Peng Wanxin<sup>1</sup>, Du Fengyi<sup>1</sup>, Zhou Hailang<sup>1</sup>, Gong Aihua<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Basic Medical Sciences, School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

<sup>2</sup>State Key Laboratory for Oncogenes and Related Genes, Shanghai 200032, China)

**Abstract** To investigate the effects of ADAM17 on the ability of proliferation and migration of human glioma cells and its regulatory mechanism, we first detected ADAM17 expression in different glioma cell lines. Then the specific shRNA against ADAM17 and the expressing vector of pRK5M-ADAM17 were transfected into the glioma cells U87MG, U251MG and SW1783, respectively. q-PCR and Western blot were used to examine the levels of ADAM17 and the proteins related to Hippo signaling pathway. The relative rates of proliferation and migration were determined by CCK-8 assay and wound scratch assay, respectively. The results showed that ADAM17 depletion decreased the ability of proliferation and migration in U87MG, U251MG cells ( $P < 0.05$ ) and increased the levels of proteins related to Hippo signaling pathway. While ADAM17 over expression increased the ability of proliferation and migration in SW1783 cells ( $P < 0.05$ ). Taken together, our results suggested that the

收稿日期: 2015-10-14 接受日期: 2015-12-11

国家自然科学基金(批准号: 81372718)、癌基因及相关基因国家重点实验室开放课题(批准号: 90-13-05)和江苏大学高级人才启动基金(批准号: 1281270058)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0511-80538449, E-mail: ahg5@mail.ujs.edu.cn

Received: October 14, 2015 Accepted: December 11, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81372718), the State Key Laboratory of Oncogenes and Related Genes (Grant No.90-13-05) and the Starting Foundation for Senior Talent of Jiangsu University (Grant No.1281270058)

\*Corresponding author. Tel: +86-511-80538449, E-mail: ahg5@mail.ujs.edu.cn

网络出版时间: 2016-01-08 14:51:23

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160108.1451.002.html>

*ADAM17* played an important role in the proliferation and migration of glioma cells. *ADAM17* promoted the ability of proliferation and migration in glioma cells by inhibiting Hippo signaling pathway, reflecting in the decrease of MST2, p-MOB1, and the YAP phosphorylation.

**Keywords** *ADAM17*; glioma; Hippo signaling pathway; proliferation; migration

脑胶质瘤是颅内发病率最高的恶性肿瘤,是预后最差的恶性肿瘤之一<sup>[1-2]</sup>。近年来研究发现,脑胶质瘤的发生发展和其他系统的肿瘤一样,都是多因素、多基因共同参与的结果<sup>[3-5]</sup>,从肿瘤过度增殖和早期转移的分子机制角度寻找有效的阻断靶点,可以为临床治疗研究提供新的策略。

去整合素-金属蛋白酶17(disintegrin and metalloproteinase 17, *ADAM17*)是金属蛋白酶家族成员之一,又称为肿瘤坏死因子 $\alpha$ 转化酶(tumor necrosis factor- $\alpha$  converting enzyme, TACE),是一种锌依赖的多结构域型跨膜蛋白,在人类的生长发育过程、炎症和肿瘤等病理过程中发挥着重要作用<sup>[6-7]</sup>。研究发现,*ADAM17*在人类多种肿瘤中呈高表达<sup>[8-10]</sup>。已有文献报道,随着脑胶质瘤恶性程度增加,*ADAM17*的表达水平也逐渐增加,表明其与脑胶质瘤的发生发展密切相关<sup>[11]</sup>。Hippo信号通路是一个高度保守的生长控制信号通路,对细胞增殖和凋亡都具有关键的调节作用,多种人类肿瘤细胞的Hippo信号调节作用呈下调,表明其与肿瘤发生有着密切关系<sup>[12]</sup>。然而,目前关于*ADAM17*在胶质瘤发生发展中的生物学功能和分子调控机制还不完全清楚。因此,本研究旨在探讨*ADAM17*在脑胶质瘤中的生物学效应及其对Hippo信号通路的影响,为进一步作体内研究提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 细胞和质粒 实验用人脑胶质瘤细胞系SW1783、U87MG和U251MG购自中国科学院上海细胞库。pLKO.1-puro载体和*ADAM17*过表达质粒pRK5M由江苏大学医学院细胞生物研究室保存。

1.1.2 主要试剂 胎牛血清FBS购自Gibco公司。DMEM培养基购自Wisent公司。转染试剂FUGENE® 6购自Promega公司。限制性内切核酸酶*EcoR* I和*Age* I购自NEB公司。兔抗人*ADAM17*抗体及Hippo信号通路中信号分子相关抗体购自Cell Signaling公司。鼠抗人GAPDH抗体购自Santa Cruz公司。羊抗

兔、羊抗鼠二抗购自Santa Cruz公司。CCK-8溶液购自Promega公司。dsDNA oligos由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

### 1.2 方法

1.2.1 荧光定量PCR(q-PCR)检测*ADAM17*的表达 提取细胞总RNA并逆转录生成cDNA,荧光定量PCR检测*ADAM17*的表达。*ADAM17*上游引物序列: 5'-AGA GCT GAC CCA GAT CCC AT-3',下游引物序列: 5'-TAC TCT CTT CCC CTC TGC CC-3'。*GAPDH*上游引物序列: 5'-TGG GGA AGG TGA AGG TCG G-3',下游引物序列: 5'-CTG GAA GAT GGT GAT GGG A-3'。

1.2.2 Western blot检测细胞中相关蛋白的表达 裂解细胞时加入2×蛋白上样缓冲液,95 °C加热5 min,用10% SDS-PAGE分离样品,湿转法转至PVDF膜。5%脱脂奶粉室温封闭2 h,加入一抗4 °C孵育过夜,加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗室温孵育1 h,ECL化学发光检测显影,在凝胶成像系统上拍照并分析。

1.2.3 *ADAM17*干扰质粒的构建 在Sigma公司官网搜索已在293T细胞中证实的*ADAM17* shRNA的序列。*ADAM17* shRNA上游引物序列: 5'-CCG GCC TAT GTC GAT GCT GAA CAA ACT CGA GTT TGT TCA GCA TCG ACA TAGG TTT TTG-3',下游引物序列: 5'-AAT TCA AAA ACC TAT GTC GAT GCT GAA CAA ACT CGA GTT TGT TCA GCA TCG ACA TAG G-3'。对照组*eGFP* shRNA上游引物序列: 5'-CCG GTA CAA CAG CCA CAA CGT CTA TCT CGA GAT AGA CGT TGT GGC TGT TGT ATT TTT G-3',下游引物序列: 5'-AAT TCA AAA ATA CAA CAG CCA CAA CGT CTA TCT CGA GAT AGA CGT TGT GGC TGT TGT A-3',引物退火形成带黏性末端的双链。*EcoR* I及*Age* I双酶切pLKO.1-puro载体并与双链DNA连接后转化感受态细胞,挑取单克隆做菌液PCR进行鉴定,所构建质粒经测序正确后用于细胞转染实验。

1.2.4 细胞转染 将对数生长期的U87MG、U251MG细胞以 $4 \times 10^5$ /孔铺于6孔板中,贴壁12 h后转

染质粒, 每孔转质粒2.5  $\mu\text{g}$ , 质粒与Fugene质量体积比为1:3, 溶于DMEM中, 转染后继续于培养箱培养。

**1.2.5 CCK-8法检测细胞的增殖能力** 将转染12 h后的细胞用0.25%胰蛋白酶消化,  $1\times$ 磷酸盐缓冲溶液(PBS)清洗1次, 以 $1\times 10^3$ /孔接种于96孔板, 同时设空白对照组(不加细胞), 分别于1、2、3、4、5 d加入10  $\mu\text{L}$  CCK-8溶液, 避光孵育2 h后, 在酶联免疫检测仪490 nm处读取各孔吸光值。重复3次取平均值, 以时间为横轴、相对增殖率为纵轴绘制生长曲线。

**1.2.6 划痕实验检测细胞的迁移能力** 细胞转染48 h后, 消化细胞并接种于24孔板中, 过夜至细胞汇合度达90%时划痕, 并更换为无血清培养基, 于固定位置拍照, 48 h后再次在固定位置拍照, 计算相对迁移距离, 重复3次后取平均值。

### 1.3 数据统计

数据统计采用SPSS 19.0软件进行统计学分析。

实验数据用均数 $\pm$ 标准差表示, 两样本均数比较采用 $t$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

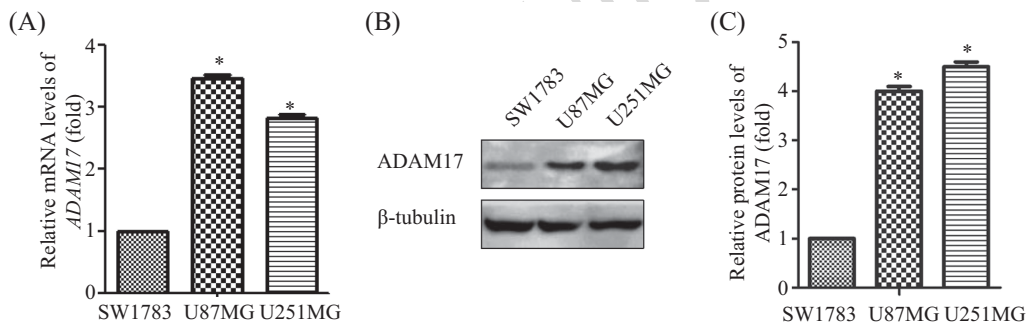
## 2 结果

### 2.1 三种脑胶质瘤细胞中ADAM17 mRNA和蛋白质水平比较

荧光定量PCR结果表明, U87MG、U251MG细胞中ADAM17的mRNA表达水平明显高于SW1783细胞, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )(图1A)。Western blot检测结果证实, SW1783细胞中ADAM17的蛋白质表达水平也明显低于U87MG、U251MG细胞(图1B)。

### 2.2 下调ADAM17对U87MG、U251MG细胞增殖和迁移的影响

本研究选取高表达ADAM17的U87MG、U251MG细胞进行基因沉默实验。转染72 h后, 荧光定量PCR结果表明, 与对照组(shRNA-eGFP)相比, 实验组

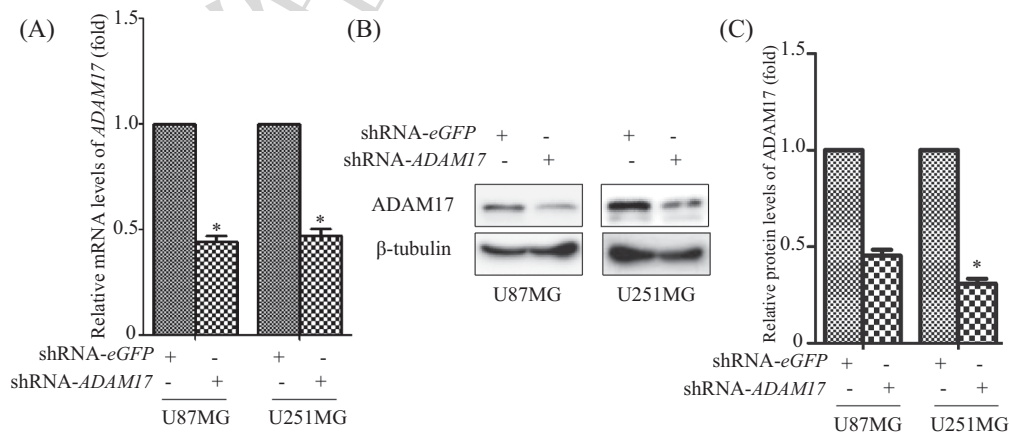


A: q-PCR检测ADAM17 mRNA水平; B: Western blot检测ADAM17蛋白质水平; C: 蛋白灰度相对分析。\* $P<0.05$ , 与SW1783组比较。

A: determination of ADAM17 mRNA level by q-PCR; B: determination of ADAM17 protein levels by Western blot; C: relative protein levels of ADAM17 detected by densitometry. \* $P<0.05$  vs SW1783 group.

图1 三种胶质瘤细胞中ADAM17的表达

Fig.1 Expressions of ADAM17 gene in three glioma cells



A: shRNA-ADAM17转染U87MG和U251MG细胞后ADAM17 mRNA水平; B: shRNA-ADAM17转染U87MG和U251MG细胞后ADAM17在蛋白的表达水平; C: 蛋白灰度相对分析。\* $P<0.05$ , 与shRNA-eGFP组比较。

A: expressions of ADAM17 mRNA in U87MG, U251MG cells transfected by shRNA-ADAM17; B: expressions of ADAM17 protein in U87MG and U251MG cells transfected by shRNA-ADAM17; C: relative protein levels of ADAM17 detected by densitometry. \* $P<0.05$  vs shRNA-eGFP group.

图2 shRNA-ADAM17介导的U87MG和U251MG细胞ADAM17表达降低的验证

Fig.2 Verification of shRNA-ADAM17 mediated ADAM17 decrease in U87MG and U251MG cells

(shRNA-*ADAM17*)中*ADAM17*的水平明显降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 图2A)。Western blot检测结果证实, 实验组*ADAM17*的蛋白表达量也明显降低(图2B)。说明本研究所用的shRNA-*ADAM17*能够有效地抑制胶质瘤U87MG、U251MG细胞中*ADAM17*的表达。

为了分析下调*ADAM17*基因表达对U87MG、U251MG细胞增殖速率的影响, 分别在质粒转染后的5个时间点(1、2、3、4、5 d)检测96孔板中两组细胞的增殖情况。与对照组相比, 实验组细胞的相对增殖速率降低, 在48 h即开始出现明显增殖抑制现象, 随时间延长抑制越明显( $P < 0.05$ )。结果说明, 下调*ADAM17*基因可以抑制U87MG、U251MG细胞的增殖速率(图3A和图3B)。

划痕实验结果显示, 细胞在划痕损伤后0 h未有明显差异, 48 h后对照组细胞划痕面积明显缩小, 而实验组划痕面内未见明显细胞迁移, 对照组与实验组相对迁移率分别为U87MG:  $60 \pm 4$ 、 $18 \pm 4$ ; U251MG:  $42 \pm 4$ 、 $20 \pm 5$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 说明下调*ADAM17*基因使U87MG、U251MG细胞迁

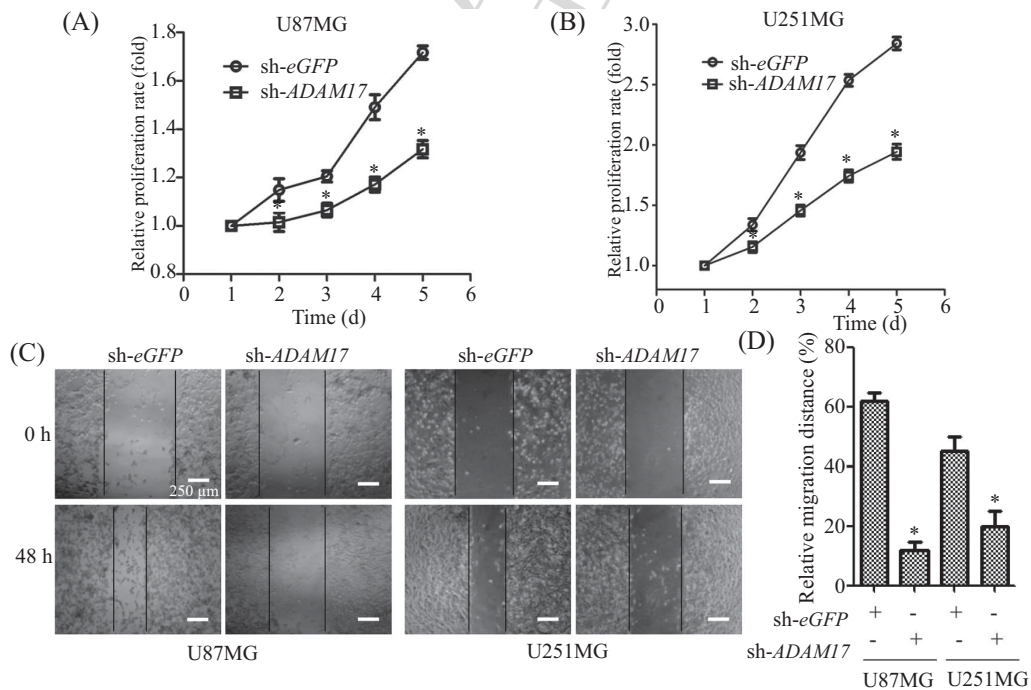
移能力减弱(图3C)。

### 2.3 过表达*ADAM17*基因对SW1783细胞增殖和迁移的影响

本实验选取低表达*ADAM17*的SW1783细胞进行过表达实验。转染72 h后, 荧光定量PCR结果表明(图4A), 与空载体组(pRK5M-vector)相比, 实验组(pRK5M-*ADAM17*)中*ADAM17*水平增加约8倍, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Western blot检测结果显示, 实验组*ADAM17*的蛋白质水平明显升高(图4B)。本研究所用的pRK5M-*ADAM17*质粒能够有效地增加胶质瘤SW1783细胞中*ADAM17*基因的表达。

为分析过表达*ADAM17*对SW1783细胞生长速率的影响, 分别在质粒转染后5个时间点(1、2、3、4、5 d)检测96孔板中两组细胞的增殖情况。与空载体组相比, 实验组细胞的增殖速率升高, 随时间延长增强越明显( $P < 0.05$ )。结果说明, 过表达*ADAM17*基因可以加快SW1783细胞的增殖速率(图5A)。

划痕实验结果显示, 细胞在划痕损伤后0 h未有明显差异, 48 h后空载体组边缘整齐, 未见明显细胞迁移, 而实验组划痕面内细胞明显增多, 相对迁移率

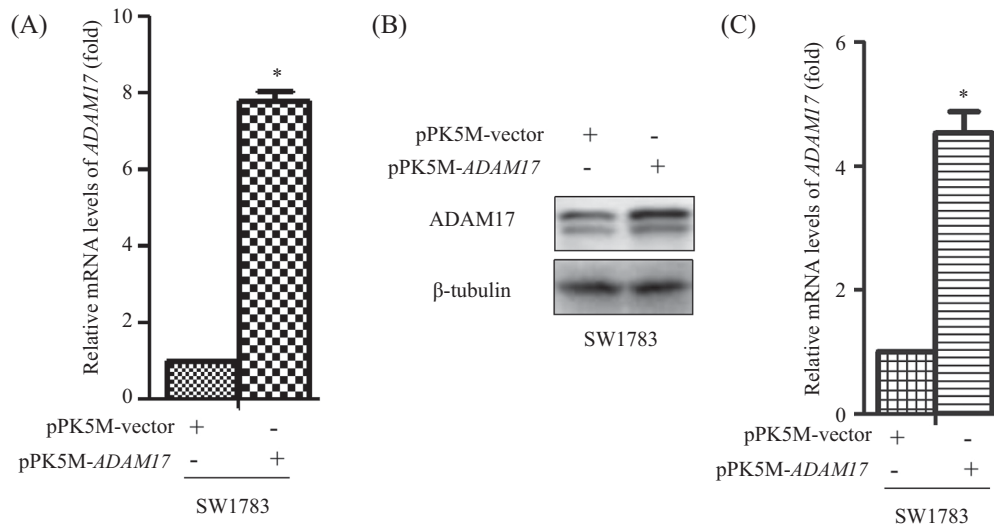


A: shRNA-*ADAM17*转染U87MG细胞后细胞增殖速率; B: shRNA-*ADAM17*转染U251MG细胞后细胞增殖速率; C: shRNA-*ADAM17*转染U87MG和U251MG细胞后细胞迁移率; D: shRNA-*ADAM17*转染U87MG和U251MG细胞后细胞相对迁移距离。\* $P < 0.05$ , 与sh-eGFP组比较。

A: relative proliferation rate of U87MG cells transfected by shRNA-*ADAM17*; B: relative proliferation rate of U251MG cells transfected by shRNA-*ADAM17*; C: migration rates of U87MG and U251MG cells transfected by shRNA-*ADAM17*; D: relative migration distance of U87MG and U251MG cells transfected by shRNA-*ADAM17*. \* $P < 0.05$  vs sh-eGFP group.

图3 下调*ADAM17*基因表达对U87MG和U251MG细胞增殖和迁移的影响

Fig.3 The effect of knockdown of *ADAM17* gene on the proliferation and migration of U87MG and U251MG cells

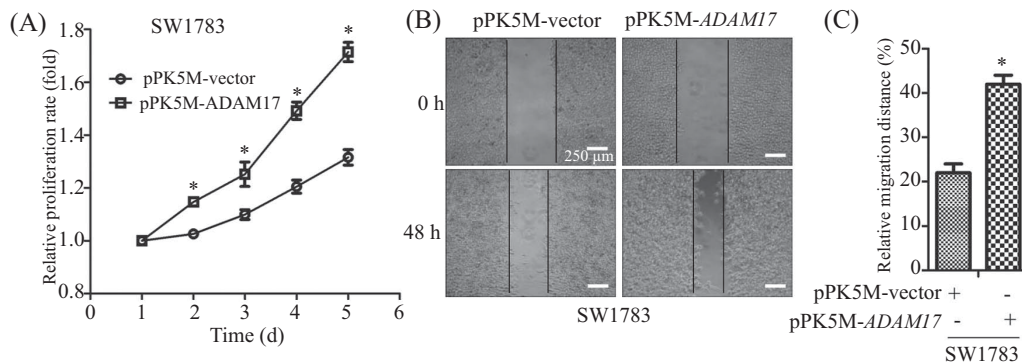


A: 荧光定量PCR检测ADAM17 mRNA水平; B: Western blot检测ADAM17的蛋白质水平; C: 蛋白灰度相对分析。\* $P < 0.05$ , 与空载体组比较。

A: determination of ADAM17 mRNA level by q-PCR; B: determination of ADAM17 protein levels by Western blot; C: relative protein levels of ADAM17 detected by densitometry. \* $P < 0.05$  vs pRK5M-vector group.

图4 SW1783细胞过表达ADAM17基因的验证

Fig.4 Verification of ADAM17 over-expression in SW1783 cells



A: pRK5M-ADAM17转染SW1783细胞后细胞增殖速率; B: pRK5M-ADAM17转染SW1783细胞后细胞迁移率; C: pRK5M-ADAM17转染SW1783细胞后细胞相对迁移距离。\* $P < 0.05$ , 与sh-eGFP组比较。

A: relative proliferation rate of SW1783 cells transfected by pRK5M-ADAM17; B: migration rates SW1783 cells transfected by pRK5M-ADAM17; C: relative migration distance of SW1783 cells transfected by pRK5M-ADAM17. \* $P < 0.05$  vs sh-eGFP group.

图5 过表达ADAM17基因对SW1783细胞增殖和迁移的影响

Fig.5 The effect of ADAM17 over-expression on cell proliferation and migration of SW1783

分别为 $20 \pm 4$ 和 $42 \pm 4$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 说明上调ADAM17基因使SW1783细胞迁移能力增强(图5B)。

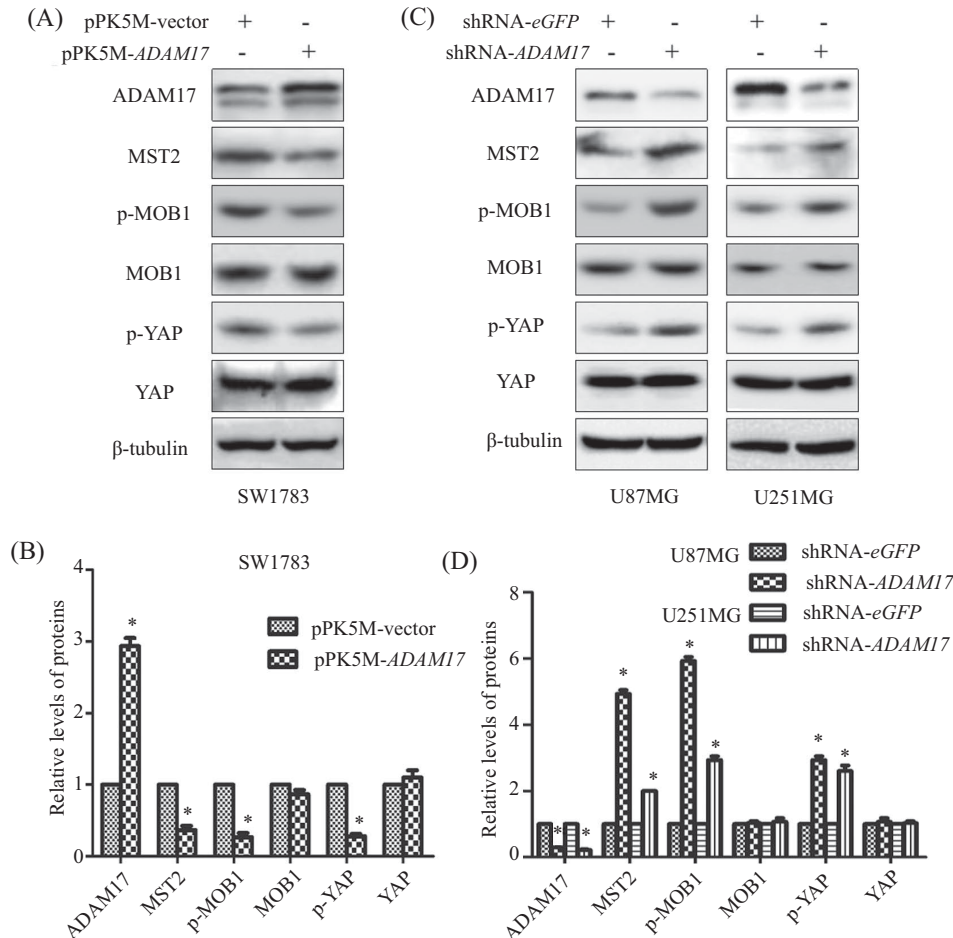
#### 2.4 ADAM17对Hippo信号通路中相关蛋白质水平的影响

本实验选取低表达ADAM17的SW1783细胞及高表达ADAM17的U87MG、U251MG细胞分别进行过表达及干扰实验。转染48 h后, Western blot检测结果显示, 随着ADAM17表达量增加, MST2(mammalian sterile20-like kinase)、p-MOB1(phosphorylation of Mps one binder 1)、p-YAP(phosphorylation of Yes-associated protein)蛋白质水平降低; 随着ADAM17表达量降低,

MST2、p-MOB1、p-YAP蛋白质水平增加(图6A和图6B)。结果说明, 在人胶质瘤细胞中ADAM17影响了Hippo信号通路中相关蛋白。

### 3 讨论

神经胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤, 也是最具侵袭性的恶性肿瘤之一, 占神经系统原发性肿瘤的50%以上。目前, 胶质瘤的主要治疗手段是手术治疗, 术后以放射治疗和化学药物治疗为辅<sup>[1-2]</sup>。但是神经胶质瘤生长较快, 容易侵袭周围健康的脑组织, 具有高复发和高转移的特性, 所以手术治疗, 术后放射治疗和化学药物治疗都无法



A: *ADAM17*转染SW1783细胞后, ADAM17及Hippo信号通路相关蛋白的表达水平; B: 蛋白灰度相对分析, \* $P < 0.05$ , 与pPK5M-vector组比较; C: shRNA-*ADAM17*转染U87MG和U251MG细胞后, ADAM17及Hippo信号通路相关蛋白的表达水平; D: 蛋白灰度相对分析, \* $P < 0.05$ , 与shRNA-*eGFP*组比较。

A: expression of ADAM17 and the levels of proteins related to Hippo signaling pathway in SW1783 transfected by pPK5M-*ADAM17*; B: relative levels of proteins detected by densitometry, \* $P < 0.05$  vs pPK5M-vector group; C: expression of ADAM17 and the levels of proteins related to Hippo signaling pathway in U87MG and U251MG cells transfected by shRNA-*ADAM17*; D: relative levels of proteins detected by densitometry. \* $P < 0.05$  vs shRNA-*eGFP* group.

图6 *ADAM17*基因对Hippo信号通路相关蛋白的影响

Fig.6 *ADAM17* gene influenced the levels of proteins related to Hippo signaling pathway

治愈该疾病<sup>[3-4]</sup>。因此,有必要进一步探索促进胶质瘤细胞增殖和迁移的分子机制。本研究体外探讨了ADAM17对人胶质瘤细胞增殖和迁移的影响及其调控机制。结果表明,ADAM17可能通过Hippo信号转导通路,促进了人胶质瘤细胞增殖和迁移,为抑制胶质瘤细胞增殖提供了新途径。

首先,ADAM17是一种含有多个结构域的I型跨膜蛋白,参与多种蛋白质的水解,可通过降解细胞基底膜和细胞外基质,并影响组织的重塑而促进肿瘤的局部浸润和转移生成<sup>[6-7]</sup>。近年来,研究表明,ADAM17在正常细胞中表达很少,但在肝癌、胃癌、食管鳞癌、卵巢癌、前列腺癌等人类多种肿

瘤中呈现高表达的现象<sup>[8-9]</sup>。此外,已有研究表明,ADAM17的表达与胶质瘤的恶性程度呈正相关<sup>[11]</sup>,但ADAM17在人脑胶质瘤细胞中的具体调控机制还不完全清楚。本研究发现,ADAM17在高度恶性组的表达高于低度恶性组,这与其他研究组的报道基本一致。此外,我们将过表达和干扰ADAM17的质粒分别转染于相对低表达和高表达ADAM17的人脑胶质瘤细胞,结果表明,ADAM17可以促进细胞的增殖和迁移。

Hippo信号通路最初在果蝇细胞内发现,是目前阐述较为清楚的果蝇细胞增殖与凋亡调节信号转导通路,此信号通路不能激活或者作用下调有利于肿瘤

的发生<sup>[12]</sup>。此信号通路的组成成分中包括多种抑癌基因和一种候选癌基因,其中候选癌基因YAP在多种类型的人类肿瘤中表达异常增加<sup>[13]</sup>。Hippo-YAP信号通路失调在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中普遍存在, YAP过表达可导致小鼠肝体积增大和恶性转化为HCC,这主要因为YAP基因扩增使其在HCC的胞质中表达增多<sup>[14]</sup>。此外, YAP在上消化道重度不典型增生、食管腺癌、胃腺癌及转移胃癌中的表达也明显增高<sup>[15]</sup>。已有研究证明,敲低人脑胶质瘤细胞中YAP表达,可以抑制胶质瘤细胞增殖,并抑制细胞侵袭能力<sup>[16]</sup>,但Hippo信号通路上游成分与通路相互作用机制、上游抑制调节机制以及YAP在体内对癌症发生的调节机制等方面尚不清楚。因此,本研究在人脑胶质瘤细胞中干扰或过表达ADAM17,探索其是否影响Hippo信号通路,结果表明,ADAM17确实影响了Hippo信号通路中相关蛋白。

本研究通过构建ADAM17过表达及干扰质粒转染细胞,采用q-PCR、Western blot、CCK-8、划痕实验,验证了ADAM17对人脑胶质瘤细胞增殖和迁移的促进作用,并通过Western blot探索了ADAM17对Hippo信号转导通路中相关蛋白的影响。这些体外实验结果表明,ADAM17通过影响Hippo信号通路,改变了人脑胶质瘤细胞的增殖和迁移能力。这对于指导治疗以提高胶质瘤患者的生存率具有重要意义,但尚需进一步的体内实验证实上述结果。此外,ADAM17影响Hippo信号通路的具体作用机制也需要进一步探讨。

### 参考文献 (References)

- 1 Song T, Li H, Tian Z, Xu C, Liu J, Guo Y. Disruption of NF- $\kappa$ B signaling by fluoxetine attenuates MGMT expression in glioma cells. *Onco Targets Ther* 2015; 8: 2199-208.
- 2 Duan R, Han L, Wang Q, Wei J, Chen L, Zhang J, *et al.* HOXA13 is a potential GBM diagnostic marker and promotes glioma invasion by activating the Wnt and TGF- $\beta$  pathways. *Oncotarget* 2015; 6(29): 27778-93.
- 3 Popescu AM, Alexandru O, Brindusa C, Purcaru SO, Tache DE, Tataranu LG, *et al.* Targeting the VEGF and PDGF signaling

- pathway in glioblastoma treatment. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(7): 7825-37.
- 4 Grau SJ, Trillsch F, Tonn JC, Goldbrunner RH, Noessner E, Nelson PJ, *et al.* Podoplanin increases migration and angiogenesis in malignant glioma. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(7): 8663-70.
- 5 Guo W, Tian H, Dong X, Bai J, Yang X. Knockdown of Gli1 by small-interfering RNA enhances the effects of BCNU on the proliferation and apoptosis of glioma U251 cells. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(7): 7762-73.
- 6 Liu HB, Zhu Y, Yang QC, Shen Y, Zhang XJ, Chen H. Expression and clinical significance of ADAM17 protein in esophageal squamous cell carcinoma. *Genet Mol Res* 2015; 14 (2): 4391-8.
- 7 Urriola-Muñoz P, Lagos-Cabrè R, Moreno RD. A mechanism of male germ cell apoptosis induced by bisphenol-A and nonylphenol involving ADAM17 and p38 MAPK activation. *PLoS One* 2014; 9(12): e113793.
- 8 Gao MQ, Kim BG, Kang S, Choi, YP, Yoon JH, Cho NH. Human breast cancer-associated fibroblasts enhance cancer cell proliferation through increased TGF- $\alpha$  cleavage by ADAM17. *Cancer Lett* 2013; 336(1): 240-6.
- 9 Ni SS, Zhang J, Zhao WL, Dong XC, Wang JL. ADAM17 is overexpressed in non-small cell lung cancer and its expression correlates with poor patient survival. *Tumour Biol* 2013; 34(3): 1813-8.
- 10 Shou ZX, Jin X, Zhao ZS. Upregulated expression of ADAM17 is a prognostic marker for patients with gastric cancer. *Ann Surg* 2012; 256(6): 1014-22.
- 11 Wu B, Sha L, Wang Y. Diagnostic and prognostic value of a disintegrin and metalloproteinase-17 in patients with gliomas. *Oncol Lett* 2014; 8(6): 2616-20.
- 12 Pegoraro S, Ros G, Ciani Y, Xu W, Yu Y, Feng F, *et al.* A novel HMGA1-CCNE2-YAP axis regulates breast cancer aggressiveness. *Oncotarget* 2015; 6(22): 19087-101.
- 13 Ahmed AA, Abedalthagafi M, Anwar AE, Bui MM. Akt and Hippo pathways in Ewing's Sarcoma tumors and their prognostic significance. *J Cancer* 2015; 6(10): 1005-10.
- 14 Bai H, Anders RA. Expression of YAP protein and evaluation of the YAP genomic loci in human hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol* 2009; 136: A816.
- 15 Orr BA, Bai H, Odiya Y, Jain D, Anders RA, Eberhart CG. Yes-associated protein 1 is widely expressed in human brain tumors and promotes glioblastoma growth. *J Neuropathol Exp Neurol* 2011; 70(7): 568-77.
- 16 于福华, 贾志凡, 浦佩玉, 王广秀, 张安玲, 杨卫东. YAP调控人胶质瘤细胞生长的体外研究. *中国肿瘤临床*(Yu Fuhua, Jia Zhifan, Pu Peiyu, Wang Guangxiu, Zhang Anling, Yang Weidong. Yes-associated protein modulation of human glioma cell growth *in vitro*. *Chin J Clin Oncol*) 2014; 41(11): 689-92.