

文章编号 1006-8147(2020)05-0408-05

论著

Nrf2 促进肝癌细胞的迁移与侵袭能力

张宁,赵秀兰,李勇莉,董学易,赵楠,刘铁菊

(天津医科大学基础医学院病理学教研室,天津 300070)

摘要 目的:探讨核转录因子 Nrf2 对肝癌细胞迁移及侵袭能力的影响。方法:将 Nrf2 过表达质粒通过慢病毒包装后分别转染至肝癌细胞系 HCC-LM3 及 Bel-7402 中,通过划痕实验、Transwell 侵袭实验观察 Nrf2 对肝癌细胞迁移运动及侵袭能力的影响,使用 Western 印迹法检测转染后的 HCC-LM3 及 Bel-7402 肝癌细胞中基质金属蛋白酶 2(MMP2)与基质金属蛋白酶 9(MMP9)表达情况,通过收集网络数据库 GEPIA 中相关临床资料信息分析 Nrf2 对肝癌患者生存时间的影响。结果:在肝癌细胞系 HCC-LM3 与 Bel-7402 中过表达 Nrf2,其迁移侵袭能力均明显增强。此外发现过表达 Nrf2 的 HCC-LM3 肝癌细胞中 MMP2 及 MMP9 表达均增加($t=2.879, 5.582$, 均 $P<0.05$);Bel-7402 肝癌细胞转染 Nrf2 过表达质粒后,其 MMP2 及 MMP9 表达也相对增加($t=3.756, 2.968$, 均 $P<0.05$)。高表达 Nrf2 的肝癌患者生存时间短于低表达 Nrf2 的肝癌患者(Logrank $P=0.042$)。结论:肝癌细胞 Nrf2 高表达可能通过增加 MMP2 及 MMP9 的表达,进而促进肝癌细胞迁移及侵袭能力,并且 Nrf2 高表达与肝癌患者的不良预后有关。

关键词 肝细胞肝癌;MMP;Nrf2;迁移;侵袭;预后

中图分类号 R735.7

文献标志码 A

Nrf2 promotes the migration and invasion in hepatocellular carcinoma

ZHANG Ning, ZHAO Xiu-lan, LI Yong-li, DONG Xue-yi, ZHAO Nan, LIU Tie-ju

(Department of Pathology, College of Basic Medicine, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract **Objective:** To study the effect of Nrf2 on the migration and invasion in hepatocellular carcinoma. **Methods:** HCC-LM3 cells and Bel-7402 cells were transfected with the Nrf2 overexpression plasmid packaged by lentivirus to induce the exogenous expression of Nrf2. The wound healing assay and Transwell migration assay were used to determine the effect of Nrf2 on the invasion and migration in hepatocellular carcinoma. The expression of matrix metalloproteinase 2(MMP2) and matrix metalloproteinase 9(MMP9) was analyzed by Western blot and compared with that in the control. The effect of Nrf2 on the survival time of patients in liver cancer was analyzed through collecting relevant clinic information in GEPIA. **Results:** After transfection, HCC-LM3 cells and Bel-7402 cells with the Nrf2 overexpression plasmid showed enhanced invasion and migration. In addition, it was found that the expression of MMP2 and MMP9 in HCC-LM3 cells overexpressing Nrf2 were increased ($t=2.879, 5.582$, all $P<0.05$); meanwhile, the expression of MMP2 and MMP9 in Bel-7402 cells transfected with the Nrf2 overexpression plasmid were also increased ($t=3.756, 2.968$, all $P<0.05$). The survival time of patients in liver cancer with the high Nrf2 expression was shorter than that of patients with the low Nrf2 expression(Logrank $P=0.042$). **Conclusion:** Nrf2 might promote the migration and invasion in hepatocellular carcinoma by increasing MMP2 and MMP9 expression. And the expression of Nrf2 is related to the poor prognosis of patients in liver cancer.

Key words hepatocellular carcinoma; MMP; Nrf2; migration; invasion; prognosis

肝癌是全球导致死亡的第四大恶性肿瘤,由于早期症状不明显,预后普遍很差^[1]。目前肝癌手术治疗及靶向治疗效果均不佳^[2]。肝癌的高侵袭性及高转移性为治疗带来极大困难^[3]。核转录因子 Nrf2 是 CNC(Cap'n'Collar)转录因子家族成员,具有高度保守的碱性区亮氨酸拉链结构 bZip(basic region-leucine zipper)^[4]。Nrf2 在调控细胞氧化应激、增殖、分化及凋亡等多种细胞功能中发挥重要作用^[5]。有

研究表明,Nrf2 在多种恶性肿瘤中呈高表达^[6],并且与肿瘤细胞侵袭及转移等多种生物学行为密切相关^[7]。目前 Nrf2 与肝癌发生、发展的机制尚未明确,与肝癌迁移侵袭关系研究又甚少。研究 Nrf2 与肝癌迁移侵袭之间的关系能够为肝癌的诊断、治疗及预后提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 所用的人肝癌细胞系 Bel-7402 购于美国 ATCC 公司,HCC-LM3 购于北京协和细胞库,293T 购于上海复旦大学中山附属医院。

基金项目 国家自然科学基金面上项目(81572872)

作者简介 张宁(1992-),女,硕士在读,研究方向:病理学;通信作者:刘铁菊,E-mail:liutieju@tmu.edu.cn。

1.1.2 实验试剂 DMEM 培养基、RPMI-1640 培养基、Opti-MEM 培养基均购自美国 Neuronbc 公司, FBS(胎牛血清)购自美国 Gibco 公司。质粒与慢病毒包装试剂盒均购自美国 GeneCopoeia 公司, 质粒包括 NFE2L2 过表达质粒(EX-T3128-Lv201), NFE2L2 过表达对照质粒(EX-NEG-Lv201)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HCC-LM3 在含 10%FBS、1%双抗的 DMEM 培养基中培养, Bel-7402 细胞使用含 10%FBS、1%双抗的 RPMI-1640 培养基。细胞均在 37℃、含 5%CO₂ 的细胞培养箱中培养。

1.2.2 细胞转染 293T 在 10%灭活血清 DMEM 培养基中培养 48 h 后, 根据慢病毒包装说明书, 将质粒转染进 293T 细胞, 48 h 后收集病毒液, Bel-7402、HCC-LM3 在 10%灭活血清培养基中培养 24 h 后, 病毒液与培养基以 1:1 比例加入培养皿中, 48 h 后在荧光显微镜下观察转染效率, 并加入嘌呤霉素筛选稳定转染细胞。

1.2.3 Western 印迹 细胞裂解提取蛋白, 在 10%聚丙烯酰胺凝胶中电泳分离蛋白, PVDF 膜转膜 90 min, 5%脱脂奶粉/TBST 室温封闭 1 h, 加入抗体 Nrf2 (1:1 000)、GAPDH (1:2 000)、MMP 2(1:500)、MMP9(1:500)后 4℃过夜, 转天恢复室温后洗膜, 加入二抗室温摇床 2 h, 洗膜后加入发光液, 显影照相。应用 Image J 软件分析蛋白条带。

1.2.4 划痕实验 六孔板中培养细胞, 24 h 后细胞融合度达到 100%, 使用中枪头在每个孔正中轻划一道线, 洗掉漂浮细胞后加入含 5%FBS 的 DMEM 培养基, 于 0、24、48 h 在倒置显微镜下照相, 观察细胞的迁移程度并记录。

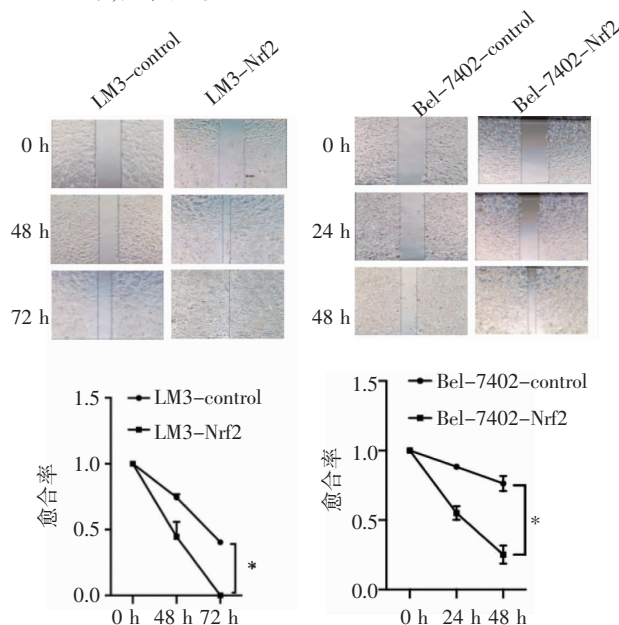
1.2.5 细胞侵袭实验 侵袭实验提前将 Matrigel 胶与 DMEM 培养基 1:8 比例混合, 添加 20 μL 在 Transwell 小室, 于细胞培养箱过夜; 24 孔板内添加 500 μL 含 10%FBS 的培养基, 上室添加 200 μL 无血清培养基制成的细胞悬液, 细胞数目为 1×10⁵ 个/mL, 细胞培养箱培养 48 h 后取下小室, 甲醇固定, 结晶紫染色, 倒置显微镜下观察并计数。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计量资料分析采用 *t* 检验。以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 Nrf2 对肝癌细胞迁移运动能力的影响 划痕实验结果显示: 与对照组相比, 过表达 Nrf2 质粒的 HCC-LM3 细胞在 48 h 时间点, 伤口愈合速度增强 (*t*=4.435, *P*<0.05), 在 72 h 时间点迁移速度也较对

照组显著增加 (*t*=37.11, *P*<0.05); 同样, 过表达 Nrf2 质粒的 Bel-7402 肝癌细胞在 24 h 时间点, 与对照组比较, 迁移速度明显增加 (*t*=11.17, *P*<0.05), 48 h 时间点伤口愈合速度也较对照组增加 (*t*=10.43, *P*<0.05), 见图 1。



注: LM3-Nrf2 在 48 h 与 72 h 迁移速度以及 Bel-7402-Nrf2 在 24 h 与 48 h 迁移速度与对照组相比, **P*<0.05

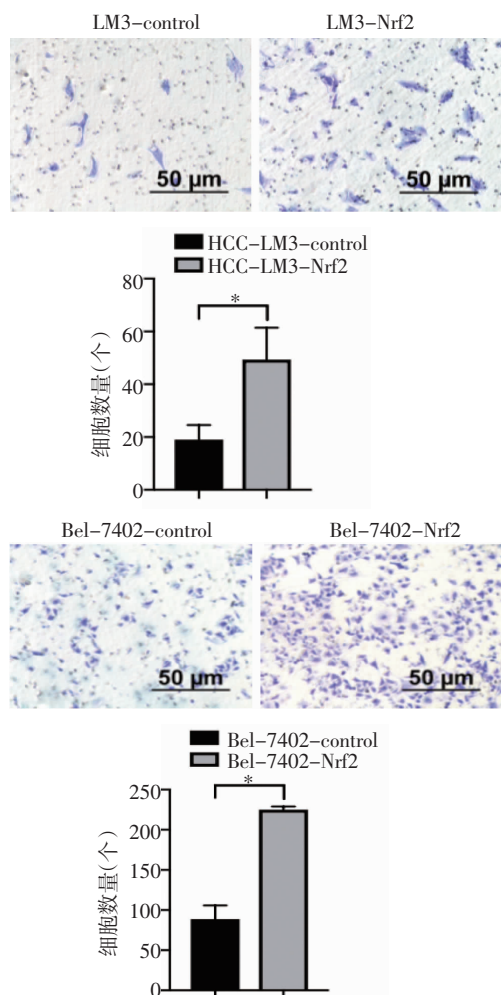
图 1 过表达 Nrf2 对肝癌细胞迁移能力的影响

Fig 1 Effects of Nrf2 on the migration in HCC-LM3 and Bel-7402 cells

2.2 Nrf2 对肝癌细胞侵袭能力的影响 采用 Transwell 侵袭实验评价 Nrf2 对肝癌细胞侵袭能力的影响。结果显示: 在过表达 Nrf2 的 HCC-LM3 肝癌细胞中, 与对照组相比, 穿过基质胶及滤膜的细胞数目增加 (*t*=3.945, *P*<0.05); 同样在过表达 Nrf2 的 Bel-7402 肝癌细胞中, 穿过基质胶及滤膜的细胞数目较对照组明显增多 (*t*=13.51, *P*<0.05), 见图 2。

2.3 Nrf2 表达对肝癌细胞 MMP2 及 MMP9 表达的影响 进一步通过 Western 印迹检测转染 Nrf2 质粒后的 HCC-LM3 与 Bel-7402 肝癌细胞中与转移侵袭相关蛋白的表达情况。结果发现: 在过表达 Nrf2 的 HCC-LM3 细胞中, MMP2 及 MMP9 表达量均增加 (*t*=2.879, *P*<0.05; *t*=5.582, *P*<0.05); 同样, 在过表达 Nrf2 的 Bel-7402 细胞中, MMP2 及 MMP9 的表达量也相对增加 (*t*=3.756, *P*<0.05; *t*=2.968, *P*<0.05), 见图 3。

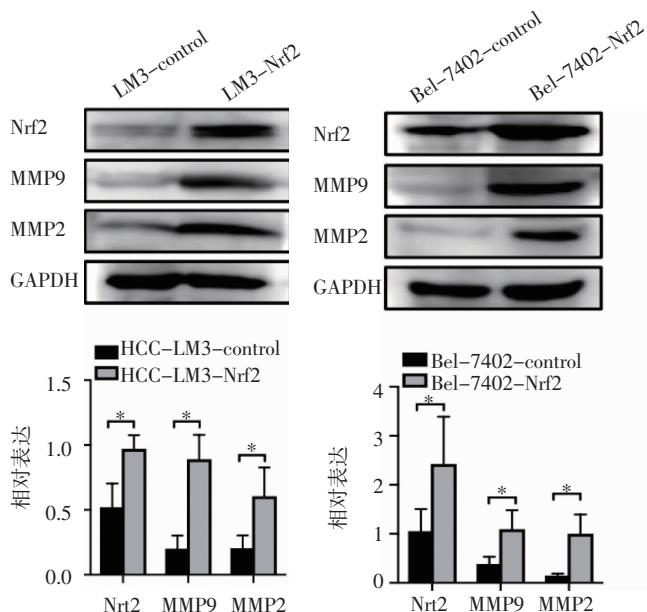
2.4 Nrf2 表达对肝癌患者生存时间的影响 对 GEPIA 数据库中具有临床资料的 400 例肝癌患者进行 Kaplan-Meier 生存分析, 结果发现: Nrf2 高表达肝癌患者的平均生存时间短于 Nrf2 低表达的肝癌患者 (Logrank *P*=0.042), 见图 4。



注: LM3-Nrf2 以及 Bel-7402-Nrf2 穿透细胞数量与对照组相比, * $P<0.05$

图 2 Nrf2 对肝癌细胞侵袭能力的影响

Fig 2 Effects of Nrf2 on the invasion in HCC-LM3 and Bel-7402 cells



注: Nrf2: 核转录因子 E2 相关因子 2; 与对照组相比, * $P<0.05$

图 3 肝癌细胞 Nrf2 过表达后 MMP2 及 MMP9 的表达变化

Fig 3 Expression of MMP9 in HCC-LM3 and Bel-7402 cells after transfection with overexpression plasmid of Nrf2

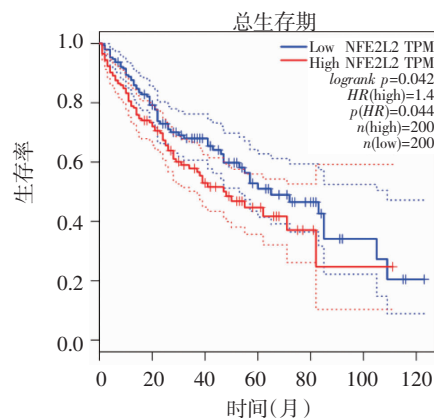


图 4 Nrf2 的表达与肝癌患者生存时间的关系

Fig 4 Relationship between the expression of Nrf2 and survival time of patients with hepatocellular carcinoma

3 讨论

中国肝癌发生率居世界前列,全球范围内中国有约一半的原发性肝癌病例,原发性肝癌包括肝细胞肝癌、胆管细胞肝癌、混合型肝癌及纤维板层样肝癌,其中肝细胞肝癌占 90% 以上^[8]。随着医疗水平的进步,近年来肝癌诊断率得到增加,但临床资料发现肝癌 5 年生存率并没有明显提高,这与肝癌容易发生侵袭、转移有关。肝癌转移使患者失去手术根治机会,放化疗后容易复发,死亡率极高^[9-10]。研究与肝癌转移相关的分子靶点对肝癌诊断与干预具有临床指导意义。

Nrf2 在多种恶性肿瘤中呈高表达,研究表明 Nrf2 在肿瘤发生、发展中发挥重要作用^[11]。大量实验证明, Nrf2 通过调控多种信号途径参与肿瘤增殖、侵袭及转移等多种行为。例如 Nrf2 通过调控 Notch1 信号转导途径,促进肝癌迁移侵袭能力^[12]。在乳腺癌中, Nrf2 通过结合雌激素受体相关受体 (estrogen receptor-related receptor 1, ERR1) 基因启动子序列,抑制 ERR1 基因的转录,从而减少 RhoA 蛋白降解, RhoA 能够增强乳腺癌细胞的迁移侵袭及增殖能力^[13]。Nrf2 也能抑制肿瘤细胞 E-cadherin 表达,同时上调 N-cadherin 表达,促使肿瘤细胞丧失上皮特性向间质细胞转化,肿瘤侵袭转移能力也随之增加^[14]。Nrf2 基因敲除能够抑制小鼠脑血管内皮细胞的迁移及增殖^[15]。Nrf2 能够启动 p62 基因的转录,并形成正反馈共同促进肿瘤细胞的发生发展^[16]。此外,恶性肿瘤中如肝癌^[17]、肺癌^[18]、乳腺癌^[19]等 Nrf2 高表达提示患者预后较差,并且 Nrf2 表达增加能作为肿瘤患者的独立预后因素。本研究中,迁移和侵袭实验均表明 Nrf2 过表达促进了人肝癌细胞系在体外迁移运动及侵袭能力,提示 Nrf2 表达可能在肝癌侵袭转移进

展中发挥重要作用,进一步对公共数据库 400 例肝癌患者临床资料进行分析发现,Nrf2 高表达的肝癌患者生存时间普遍短于 Nrf2 低表达的肝癌患者,说明 Nrf2 表达与肝癌患者预后具有相关性。

肿瘤细胞发生迁移侵袭离不开细胞外基质及血管基底膜的蛋白降解,MMP 是一种细胞外基质的锌依赖性蛋白水解酶,在癌症侵袭转移过程发挥关键作用^[20]。MMP2 与 MMP9 均是 MMP 家族中的重要成员,在机体中参与新生血管生成、组织修复等过程^[21]。研究表明,多种恶性肿瘤如肝癌^[22]、乳腺癌^[23]、黑色素瘤^[24]等能通过增加 MMP2 及 MMP9 外分泌促进肿瘤迁移及侵袭能力。MMP2 与 MMP9 表达不仅参与肿瘤的侵袭转移过程,也与恶性肿瘤患者的低生存率密切相关^[25-26]。有学者发现,Nrf2 通过调控其下游靶基因血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)的转录,间接诱导 MMP2 表达增加,从而进一步促进恶性肿瘤的迁移侵袭能力^[27]。在肝癌与胶质瘤中,Nrf2 表达促进 MMP2 或 MMP9 的表达水平,从而促进肿瘤细胞的迁移及侵袭^[28-29]。Nrf2 基因敲除后发现食管癌细胞中 MMP2 的表达随之降低,而 E-cadherin 表达增加,Nrf2 通过促进食管癌细胞 MMP2 表达促使肿瘤细胞发生上皮间质转化,进一步增加癌症侵袭性^[30]。本实验通过 Western 印迹证明 Nrf2 表达上调后肝癌细胞中 MMP2 与 MMP9 蛋白表达均显著增加,其迁移侵袭能力明显增加,提示 Nrf2 很可能通过调控 MMP2 与 MMP9 的表达,进而促进肿瘤的迁移侵袭过程。

Nrf2 作为家族中最重要的转录因子,其在肿瘤中发挥的作用尤为重要。本研究通过体外细胞实验探讨 Nrf2 与肝癌细胞迁移侵袭的关系,证明 Nrf2 通过调控 MMP2 与 MMP9 表达促进了肝癌细胞迁移侵袭能力,并对网络公共数据库进行挖掘发现 Nrf2 可能与肝癌患者的不良预后相关,但 Nrf2 如何调控 MMP 的表达尚需更进一步的研究。本实验分析了 Nrf2 在体外肝癌细胞迁移侵袭中的作用机制,为肝癌在转移侵袭等生物学功能的研究及治疗提供了新的见解与方向。

参考文献:

- [1] Liu Z, Lin Y, Zhang J, et al. Molecular targeted and immune checkpoint therapy for advanced hepatocellular carcinoma[J]. *Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):447
- [2] Couri T, Pillai A. Goals and targets for personalized therapy for HCC[J]. *Hepatol Int*, 2019, 13(2):125
- [3] Song R, Song H, Liang Y, et al. Reciprocal activation between AT-Pase inhibitory factor 1 and NF- κ B drives hepatocellular carcinoma angiogenesis and metastasis[J]. *Hepatology*, 2014, 60(5):1659
- [4] Li Q, Xing S, Chen Y, et al. Reasonably activating Nrf2: a long-term, effective and controllable strategy for neurodegenerative diseases[J]. *Eur J Med Chem*, 2019:111862
- [5] Pompili S, Sferra R, Gaudio E, et al. Can Nrf2 modulate the development of intestinal fibrosis and cancer in inflammatory bowel disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16):4061
- [6] Zimta A A, Cenariu D, Irimie A, et al. The role of Nrf2 activity in cancer development and progression[J]. *Cancers*, 2019, 11(11):1755
- [7] Wu S, Lu H, Bai Y. Nrf2 in cancers: a double-edged sword[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(5):2252
- [8] 朱笑生,刘文超.原发性肝癌全球流行情况和危险因素的新进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 248(14):163
- [9] Sarveazad A, Agah S, Babahajian A, et al. Predictors of 5 year survival rate in hepatocellular carcinoma patients[J]. *J Res Med Sci*, 2019, 24:86
- [10] Han T S, Ban H S, Hur K, et al. The epigenetic regulation of HCC metastasis[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12):3978
- [11] Cloer E W, Goldfarb D, Schrank T P, et al. NRF2 activation in cancer: from DNA to protein[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(5):889
- [12] Jin M, Wang J, Ji X, et al. MCUR1 facilitates epithelial-mesenchymal transition and metastasis via the mitochondrial calcium dependent ROS/Nrf2/Notch pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):136
- [13] Zhang C, Wang H J, Bao Q C, et al. NRF2 promotes breast cancer cell proliferation and metastasis by increasing RhoA/ROCK pathway signal transduction[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(45):73593
- [14] Zhao Q, Mao A, Guo R, et al. Suppression of radiation-induced migration of non-small cell lung cancer through inhibition of Nrf2-Notch axis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(22):36603
- [15] Huang Y, Mao Y, Li H, et al. Knockdown of Nrf2 inhibits angiogenesis by downregulating VEGF expression through PI3K/Akt signaling pathway in cerebral microvascular endothelial cells under hypoxic conditions[J]. *Biochem Cell Biol*, 2018, 96(4):475
- [16] Wei Y, Liu D, Jin X, et al. PA-MSHA inhibits the growth of doxorubicin-resistant MCF/ADR human breast cancer cells by downregulating Nrf2/p62[J]. *Cancer Med*, 2016, 5(12):3520
- [17] Chen J, Yu Y, Ji T, et al. Clinical implication of Keap1 and phosphorylated Nrf2 expression in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Med*, 2016, 5(10):2678
- [18] Yu S, Cheng C, Wang J, et al. Loss of Beclin1 expression and Nrf2 overexpression are associated with poor survival of patients with non-small cell lung cancer[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2018, 18(12):1680
- [19] Ryoo I, Choi B, Ku S K, et al. High CD44 expression mediates p62-associated NFE2L2/NRF2 activation in breast cancer stem cell-like cells: implications for cancer stem cell resistance[J]. *Redox Biol*, 2018, 17:246
- [20] Deryugina E I, Quigley J P. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2006, 25(1):9
- [21] Kalhori V, Rnquist K. MMP2 and MMP9 participate in S1P-induced invasion of follicular ML-1 thyroid cancer cells[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 404:113

- duces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines[J]. *J Clin Invest*, 1995, 96(1): 60
- [15] Melincovici C S, Boşca A B, şuşman S, et al. Vascular endothelial growth factor(VEGF)—key factor in normal and pathological angiogenesis[J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2018, 59(2): 455
- [16] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281
- [17] Wang S, Aurora A B, Johnson B A, et al. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis[J]. *Devel Cell*, 2008, 15(2): 261
- [18] Harris T A, Yamakuchi M, Ferlito M, et al. MicroRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(5): 1516
- [19] Yafi F A, Jenkins L, Albersen M, et al. Erectile dysfunction[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16003
- [20] Lau L C, Adaikan P G. Possibility of inhibition of calcium-activated chloride channel rescuing erectile failures in diabetes [J]. *Int J Impot Res*, 2014, 26(4): 151
- [21] Burnett A L, Nehra A, Breaux R H, et al. Erectile dysfunction: AUA guideline [J]. *J Urol*, 2018, 200(3): 633
- [22] Tamás V, Kempler P. Sexual dysfunction in diabetes[J]. *Handb Clin Neurol*, 2014, 126: 223
- [23] Wessells H. Insights and interventions in diabetes associated erectile dysfunction[J]. *J Urol*, 2013, 190(1): 15
- [24] Neves D. Advanced glycation end-products: a common pathway in diabetes and age-related erectile dysfunction[J]. *Free Radic Res*, 2013, 47(Suppl 1): 49
- [25] Usta M F, Kendirci M, Gur S, et al. The breakdown of preformed advanced glycation end products reverses erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats: preventive versus curative treatment[J]. *J Sex Med*, 2006, 3(2): 242
- [26] Chillelli N C, Burlina S, Lapolla A. AGEs, rather than hyperglycemia, are responsible for microvascular complications in diabetes: a "glycoxidation-centric" point of view[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2013, 23(10): 913
- [27] Wang L, Tian W, Uwais Z, et al. AGE-breaker ALT-711 plus insulin could restore erectile function in streptozotocin induced type 1 diabetic rats [J]. *J Sex Med*, 2014, 11(6): 1452
- [28] Cech T R, Steitz J A. The noncoding RNA revolution—trashing old rules to forge new ones[J]. *Cell*, 2014, 157(1): 77
- [29] Esteller M. Non-coding RNAs in human disease[J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(12): 861
- [30] Jiang X, Luo Y, Zhao S, et al. Clinical significance and expression of microRNA in diabetic patients with erectile dysfunction[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(1): 213
- [31] Chistiakov D A, Orekhov A N, Bobryshev Y V. The role of miR-126 in embryonic angiogenesis, adult vascular homeostasis, and vascular repair and its alterations in atherosclerotic disease[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 97: 47

(2020-03-14 收稿)

(上接第 411 页)

- [22] Dou C Y, Cao C J, Wang Z, et al. EFEMP1 inhibits migration of hepatocellular carcinoma by regulating MMP2 and MMP9 via ERK1/2 activity[J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(6): 3489
- [23] Jacob A, Jing J, Lee J, et al. Rab40b regulates trafficking of MMP2 and MMP9 during invadopodia formation and invasion of breast cancer cells[J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(20): 4647
- [24] Kondratiev S, Gnepp D R, Yakirevich E, et al. Expression and prognostic role of MMP2, MMP9, MMP13, and MMP14 matrix metalloproteinases in sinonasal and oral malignant melanomas [J]. *Hum Pathol*, 2008, 39(3): 337
- [25] Wang L, Wang Q, Li H L, et al. Expression of miR200a, miR93, metastasis-related gene RECK and MMP2/MMP9 in human cervical carcinoma—relationship with prognosis[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(3): 2113
- [26] Liu J, Ping W, Zu Y, et al. Correlations of lysyl oxidase with MMP2/MMP9 expression and its prognostic value in non-small cell lung cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(9): 6040
- [27] Cernigliaro C, D'Anneio A, Carlisi D, et al. Ethanol-mediated stress promotes autophagic survival and aggressiveness of colon cancer cells via activation of nrf2/ho-1 pathway[J]. *Cancers*, 2019, 11(4): 505
- [28] Zhang M, Zhang C, Zhang L, et al. Nrf2 is a potential prognostic marker and promotes proliferation and invasion in human hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(1): 531
- [29] Pan H, Wang H, Zhu L, et al. The role of Nrf2 in migration and invasion of human glioma cell U251[J]. *World Neurosurg*, 2013, 80(3): 363
- [30] Shen H, Yang Y, Xia S, et al. Blockage of Nrf2 suppresses the migration and invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells in hypoxic microenvironment[J]. *Dis Esophagus*, 2014, 27(7): 685

(2020-03-14 收稿)