

• 论著—实验研究 •

藤龙补中汤对大肠癌 LoVo 细胞失巢凋亡的作用及机制*

王双双¹ 郑佳露² 陈锦芳¹ 郭世威¹ 师子曼¹ 胡兵¹

[摘要] 目的:观察藤龙补中汤对人大肠癌 LoVo 细胞失巢凋亡的作用及机制。方法:将藤龙补中汤作用于悬浮生长的 LoVo 细胞,CCK-8 试剂检测细胞增殖;试剂盒检测失巢凋亡、Caspases 活性和活性氧;Western blot 检测蛋白表达和磷酸化。结果:藤龙补中汤可以抑制 LoVo 细胞悬浮生长,诱导失巢凋亡,活化 Caspase-3、Caspase-8 和 Caspase-9。Caspases 抑制剂 Z-VAD-FMK 可拮抗藤龙补中汤对失巢凋亡的作用。藤龙补中汤可以上调活性氧生成,活性氧清除剂 N-乙酰-L-半胱氨酸可拮抗藤龙补中汤对 Caspases 的作用。藤龙补中汤还可降低整合素 αV 和 $\beta 3$ 的表达,抑制黏着斑激酶的磷酸化。结论:藤龙补中汤可诱导 LoVo 细胞失巢凋亡,其机制可能与上调活性氧、下调整合素 αV 和 $\beta 3$ 的表达、抑制黏着斑激酶的磷酸化相关。

[关键词] 大肠癌;藤龙补中汤;悬浮生长;失巢凋亡;Caspases;活性氧;整合素 αV ;整合素 $\beta 3$;黏着斑激酶

DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2023.09.06

[中图分类号] R735.34 **[文献标志码]** A

Effects and mechanism of Tenglong Buzhong Decoction on anoikis of LoVo colorectal cancer cells

WANG Shuangshuang¹ ZHENG Jialu² CHEN Jinfang¹ WU Shirwei¹
SHI Ziman¹ HU Bing¹

(¹Institute of Traditional Chinese Medicine in Oncology, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 200032, China;²Department of Oncology, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine)

Corresponding author: HU Bing, E-mail: bearhu@shutcm.edu.cn

Abstract Objective: To study the effects and mechanism of Tenglong Buzhong Decoction (TBD) on anoikis in human colorectal cancer LoVo cells. **Methods:** Suspension grown LoVo cells were treated with TBD. Cell proliferation was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay. Anoikis, Caspases activities and reactive oxygen species (ROS) were measured by commercial kit. Proteins expression and phosphorylation were identified by Western blot. **Results:** TBD inhibited suspension growth of LoVo cells, induced anoikis and activated Caspase-3, Caspase-8, and Caspase-9. Caspases inhibitor Z-VAD-FMK antagonized the effects of TBD on anoikis. TBD up-regulated ROS, ROS scavenger N-acetyl-L-cysteine (NAC) attenuated the effects of TBD on Caspases. TBD also inhibited the expressions of integrin αV and $\beta 3$, and phosphorylation of focal adhesion kinase (FAK). **Conclusion:** TBD induces anoikis in LoVo cells, and may be related to up-regulation of ROS, and inhibition of integrin αV and integrin $\beta 3$ expressions, and FAK phosphorylation.

Key words colorectal cancer; Tenglong Buzhong Decoction; suspension growth; anoikis; Caspases; reactive oxygen species; integrin αV ; integrin $\beta 3$; focal adhesion kinase

大肠癌是全球常见的恶性肿瘤,易于发生淋巴结、肝、肺、脑等远处转移,转移性大肠癌 5 年生存

率只有 14% 左右^[1-2];在体液循环中存活是转移的必要条件,研究中医药抑制大肠癌细胞悬浮生长具有重要意义^[3]。藤龙补中汤 (Tenglong Buzhong Decoction, TBD) 是本课题组研发的治疗大肠癌的中药复方,由藤梨根、龙葵、蛇莓、白术、薏苡仁等中药组成,临床与实验研究显示 TBD 可以抑制大肠癌转移^[4-6]。TBD 中藤梨根和蛇莓可抑制大肠癌

*基金项目:国家自然科学基金(No:82074352);上海市自然科学基金(No:20ZR1458700)

¹上海中医药大学附属龙华医院中医肿瘤研究所(上海,200032)

²上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

通信作者:胡兵, E-mail: bearhu@shutcm.edu.cn

引用本文:王双双,郑佳露,陈锦芳,等.藤龙补中汤对大肠癌 LoVo 细胞失巢凋亡的作用及机制[J].中国中西医结合消化杂志,2023,31(9):686-690. DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2023.09.06.

RKO 细胞悬浮生长,活化 Caspase-3,促进 RKO 细胞失巢凋亡^[7-8];提示 TBD 可能具有抑制大肠癌细胞悬浮生长的作用。本研究观察了 TBD 对大肠癌 LoVo 细胞悬浮生长和失巢凋亡的作用及相关机制,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 试剂

DMEM 培养液为美国 Thermo Fisher 公司产品。胎牛血清为美国 SAFC 公司产品。Cell counting kit-8(CCK-8)购自上海同仁化学公司。聚甲基丙烯酸-2-羟乙酯(poly 2-hydroxyethyl methacrylate, poly-HEMA)购于美国 Sigma-Aldrich 公司。失巢凋亡试剂盒为美国 Cell Biolabs 公司产品。整合素 αV 和 $\beta 3$ 、黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、磷酸化 FAK(p-FAK)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体购自美国 Bioworld 公司。Caspases 活性试剂盒、活性氧试剂盒、Z-VAD-FMK 和 N-乙酰-L-半胱氨酸(N-acetyl-L-cysteine, NAC)购于上海碧云天公司。

1.2 细胞培养

人大肠癌 LoVo 细胞购自中国科学院细胞库,细胞生长于含有 10% 胎牛血清和 1% 青-链霉素的 DMEM 培养液,在 37 °C、含 5% CO₂ 的饱和湿度孵箱中培养;取对数生长期细胞用于后续实验。

1.3 中药制备

TBD 主要包含藤梨根、龙葵、蛇莓、白术、薏苡仁等中药(专利号:ZL200910197565.2)。中药材由上海中医药大学附属龙华医院中药房提供,加 8 倍量水,浸泡 30 min,煮沸后煎煮 30 min,过滤,收集滤液;中药再加 6 倍水煮沸后煎煮 30 min,滤过,收集滤液。合并两次滤液,加入等体积乙醇混匀,4 °C 过夜,15 000 r/min 离心 30 min,取上清冷冻干燥,称重,无血清 DMEM 溶解,调浓度至 400 mg/mL,0.22 μm 滤器过滤除菌,-20 °C 保存备用^[9]。

1.4 悬浮生长检测

将 1×10^4 个 LoVo 细胞接种于 poly-HEMA 包被的 96 孔板中,24 h 后加入不同浓度 TBD(实验组)或等体积 DMEM(即 0 $\mu g/mL$ 的 TBD,为对照组,下同),中药作用不同时间后,加入 10 μL CCK-8,孵育 2 h 后酶标仪 450 nm 处检测各孔吸光度值(A 值),按公式计算细胞存活率:细胞存活率(%)=实验组 A 值/对照组 A 值 $\times 100\%$ 。

1.5 失巢凋亡检测

按试剂盒说明书检测失巢凋亡。将 1×10^5 个 LoVo 细胞接种于 poly-HEMA 包被的 24 孔板;接种后第 2 天加入不同浓度 TBD 或等体积 DMEM

作用 48 h,加入 1 μL 溴乙吡啶二聚体-1(ethidium homodimer-1, EthD-1)37 °C 染色 1 h,荧光显微镜下观察荧光,酶标仪检测各组荧光强度(激发波长为 525 nm,发射波长为 590 nm)。

1.6 Caspases 活性检测

收集 TBD 或 DMEM 作用 48 h 后 LoVo 细胞,以 Ac-DEVD-pNA、Ac-IETD-pNA 和 Ac-LEHD-pNA 为底物,参试剂盒说明书,分别检测 Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 的活性。在 Caspases 阻断实验中,LoVo 细胞先与 50 $\mu mol/L$ Z-VAD-FMK 孵育 2 h,再予 TBD 作用 48 h,检测失巢凋亡。

1.7 活性氧检测

按试剂盒说明书检测活性氧。将 1×10^5 个 LoVo 细胞接种于 poly-HEMA 包被的 24 孔板;接种后第 2 天加入不同浓度 TBD 或等体积 DMEM 作用 48 h,加入 2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(2',7'-dichlorofluorescein diacetate, DCFH-DA),10 $\mu m/L$,37 °C 染色 20 min,酶标仪检测各组荧光强度(激发波长为 488 nm,发射波长为 525 nm)。在活性氧阻断实验中,LoVo 细胞先与 50 mmol/L NAC 孵育 2 h,再予 TBD 作用 48 h,检测 Caspases 活性。

1.8 Western blot

收集 TBD 作用后的 LoVo 细胞,裂解、定量、变性。蛋白在 8%~10% 的聚丙烯酰胺凝胶中电泳。电转法将蛋白质转移至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭,分别与整合素 αV 和整合素 $\beta 3$ 、FAK、p-FAK(1:700)或 GAPDH(1:2 000)4 °C 孵育过夜,PBST 洗涤 3 次后与酶标二抗(1:5 000)室温孵育 2 h,PBST 洗涤 3 次后,化学发光试剂显影。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析,结果以 $\bar{X} \pm S$ 表示,采用单因素方差分析比较组间差异,LSD 检验比较两组间均数差异。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TBD 对 LoVo 细胞悬浮生长的影响

本研究采用 poly-HEMA 包被培养皿,阻止细胞贴壁,结果显示,200~6 400 $\mu g/mL$ 的 TBD 可以抑制 LoVo 细胞悬浮生长,呈时间与剂量依赖性($P < 0.05$);选择 400~1 600 $\mu g/mL$ 的 TBD 进行后续研究。见图 1。

2.2 TBD 对失巢凋亡的影响

采用试剂盒检测失巢凋亡,结果显示,TBD 作用后悬浮生长 LoVo 细胞可以吸收 EthD-1,呈现红色荧光,部分细胞出现核碎裂,提示失巢凋亡发生;TBD 组红色荧光 A 值与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 2。

2.3 TBD 对 Caspases 活性的影响

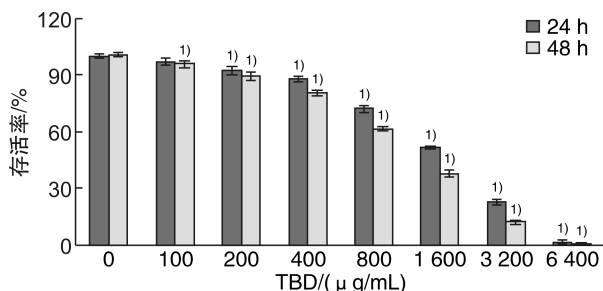
TBD 可以显著增强悬浮生长 LoVo 细胞 Caspase-3、Caspase-8 和 Caspase-9 的活性,呈剂量依赖性 ($P < 0.01$)。Caspases 抑制剂 Z-VAD-FMK 可以拮抗 TBD 对 LoVo 细胞失巢凋亡的作用,提示 TBD 对 LoVo 细胞失巢凋亡的作用依赖于 Caspases。见图 3。

2.4 TBD 对活性氧的影响

活性氧与大肠癌密切相关,高剂量的活性氧可促进细胞死亡,并可激发失巢凋亡。采用 DCFH-DA 染色检测活性氧水平,结果显示,TBD 可以提高悬浮生长 LoVo 细胞活性氧水平,呈剂量依赖性 ($P < 0.01$)。此外,活性氧清除剂 NAC 可以拮抗 TBD 对悬浮生长 LoVo 细胞 Caspases 的作用 ($P < 0.01$),提示活性氧参与 TBD 对 Caspases 活性的作用。见图 4。

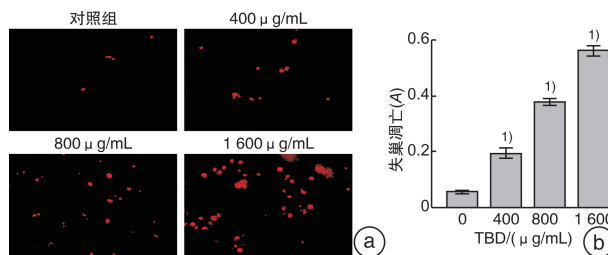
2.5 TBD 对整合素-FAK 信号转导的影响

Western blot 结果显示,TBD 可以抑制整合素 αV 和 $\beta 3$ 表达,下调 FAK 磷酸化 ($P < 0.05$),但对 FAK 的表达无明显影响。见图 5。



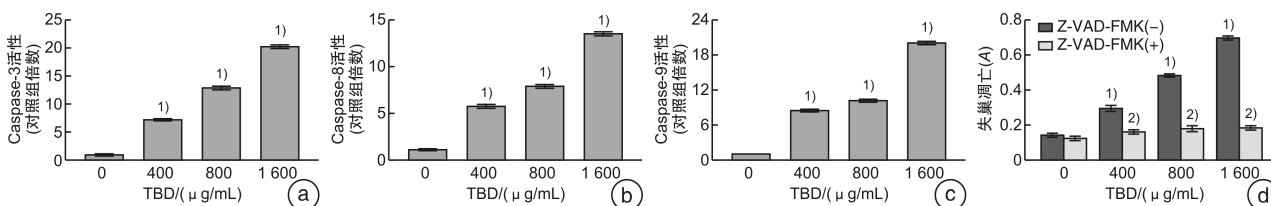
与 0 $\mu g/mL$ 的 TBD 比较,¹⁾ $P < 0.05$ 。

图 1 TBD 对 LoVo 细胞悬浮生长的影响



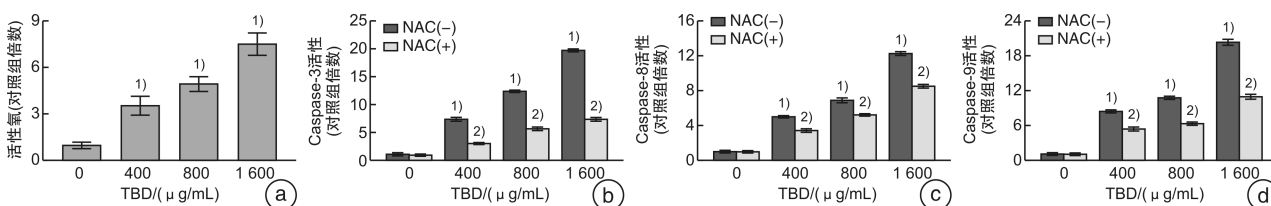
a: EthD-1 荧光染色; b: EthD-1 吸光度,与 0 $\mu g/mL$ 的 TBD 比较,¹⁾ $P < 0.01$ 。

图 2 TBD 对失巢凋亡的影响



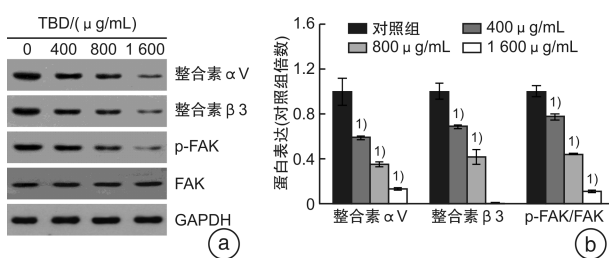
a: Caspase-3 活性; b: Caspase-8 活性; c: Caspase-9 活性; d: Caspases 活性抑制对 TBD 诱导失巢凋亡的影响。与 0 $\mu g/mL$ 的 TBD 比较,¹⁾ $P < 0.01$;与 Z-VAD-FAM(-)比较,²⁾ $P < 0.01$ 。

图 3 TBD 对 Caspases 活性的影响



a: 活性氧,与 0 $\mu g/mL$ 的 TBD 比较,¹⁾ $P < 0.01$; b~d: 活性氧清除对 TBD 激活 Caspase-3、Caspase-8 和 Caspase-9 的影响。与 0 $\mu g/mL$ 的 TBD 比较,¹⁾ $P < 0.01$;与 NAC(-)比较,²⁾ $P < 0.01$ 。

图 4 TBD 对活性氧的影响



a: Western blot; b: 蛋白表达/磷酸化分析,与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$ 。

图 5 TBD 对整合素-FAK 信号转导的影响

3 讨论

大肠癌可以归属于中医息肉、肠覃、积聚、脏毒、锁肛痔等范畴。当前各地中医在大肠癌理论与实践方面都有了新的发展,在用药方面发掘了一些新的中药资源,如山慈菇、藤梨根、猫人参、龙葵、白英、冬凌草、蛇莓、鬼针草等;这些中药可以抑制细胞增殖,阻滞细胞周期,诱导细胞凋亡和自噬,抑制转移和血管生成,改善免疫功能^[10]。本项目组以解毒、利湿、健脾立法,引入抗癌中药研究成果,研

发了治疗大肠癌的复方 TBD,方中藤梨根、蛇莓解毒抗癌,白术、薏苡仁健脾利湿,榭寄生协同抗癌并抗肿瘤新生血管生成。

大肠癌转移是一个多步骤的复杂过程,开始于肿瘤细胞从原发灶逃逸,最终在远处定植形成继发性肿瘤,主要包括以下生物过程:①肿瘤细胞从病灶脱落,与细胞外基质黏附;②肿瘤细胞分泌蛋白降解细胞外基质,使基膜产生局部缺损;③肿瘤细胞自缺损处游出,在间质中移行,与脉管黏附;④肿瘤细胞侵袭、突破脉管,进入血管/淋巴管;⑤肿瘤细胞在血液/淋巴循环中存活并随循环到达远处靶器官;⑥肿瘤细胞溢出脉管,与远器官黏附、移动、侵袭、增殖形成转移灶;其中肿瘤细胞在血液/淋巴循环中存活是转移的重要生物过程^[3,11-13]。

上皮细胞与周围基质的黏附不仅为细胞提供了形态结构上的支持,而且给细胞提供了存活信号;细胞脱离基质黏附将启动自杀机制,发生细胞凋亡,这种形式的细胞死亡被命名为失巢凋亡;肿瘤细胞由于基因突变或表达失常,可以耐受失巢凋亡;诱导失巢凋亡是防治转移的重要策略^[14-15]。本研究采用 poly-HEMA 包被培养皿;poly-HEMA 是一种无毒的阴离子聚合物,包被培养皿底部可阻止细胞贴壁,可用于模拟细胞脱离基质后的失巢状态,是研究细胞悬浮生长和失巢凋亡的重要模型^[16-17]。本研究结果显示,TBD 可以抑制 LoVo 细胞悬浮生长,呈剂量与时间依赖性。进一步的研究显示,TBD 作用后悬浮生长的 LoVo 细胞可以吸收 EthD-1 呈现红色荧光,部分细胞可见核碎裂,呈现凋亡细胞形态,提示 TBD 可以诱导 LoVo 细胞失巢凋亡。

与细胞凋亡一样,失巢凋亡也可通过内源或外源通路触发^[17-18]。在外源通路,死亡配体与受体结合,相继活化 Caspase-8 和 Caspase-3,启动失巢凋亡。在内源通路,死亡信号促使线粒体释放细胞色素 C,激活 Caspase-9,进而活化 Caspase-3,激活失巢凋亡。本研究结果显示,TBD 可以增强 Caspase-8、Caspase-9 和 Caspase-3 的活性,同时 Caspases 抑制剂 Z-VAD-FMK 可拮抗 TBD 对 LoVo 细胞失巢凋亡的作用,提示 TBD 可通过外源和内源通路促进 LoVo 细胞失巢凋亡。

活性氧是细胞在有氧代谢过程中的产物,包括 O_2^- 、 H_2O_2 和 OH^\cdot 。高水平的活性氧可以通过外源或内源通路促进细胞凋亡或失巢凋亡,是肿瘤治疗的重要作用机制^[19]。天然产物,如 reduced-gliotoxin、养肝解毒散结中药、乌索酸和大黄素,可以通过上调活性氧诱导肿瘤细胞失巢凋亡^[8-10]。活性氧诱导失巢凋亡主要与活化 Caspases 相关^[19-21]。本研究结果显示,TBD 作用后,LoVo 细胞活性氧水平升高。同时,活性氧清除剂 NAC 可

以拮抗 TBD 活化 Caspase-3、Caspase-8 和 Caspase-9 的作用,提示活性氧参与 TBD 活化 Caspases 的作用。

上皮细胞包括上皮来源肿瘤细胞,与细胞外基质黏附后,经整合素介导形成黏着斑,促使 FAK 构象变化磷酸化激活;FAK 是介导整合素信号转导的关键枢纽,可调控细胞存活、黏附、移动、侵袭等多种活动;其中存活信号可经由 PI3K/AKT 通路磷酸化 GSK3B,通过 CTNNB 调控下游靶基因表达存活信号,如 Survivin、Cyclin D1、c-Myc 等^[22-25]。整合素由 18 种 α 亚基中的 1 种和 8 种 β 亚基中的 1 种组成^[26]。整合素 αV 和 $\beta 3$ 及 FAK 与大肠癌进展乃至转移密切相关^[27-28]。芹菜素可通过降低整合素 αV 和 $\beta 3$ 及 FAK 表达促进黑色素瘤细胞的失巢凋亡^[29]。RNA 干扰抑制 FAK 表达可诱导胰腺癌细胞失巢凋亡^[30]。本研究结果显示,TBD 可以降低整合素 αV 和 $\beta 3$ 的表达,抑制 FAK 磷酸化;提示整合素 αV 和 $\beta 3$ 、FAK 参与了 TBD 的作用。

4 结论

综上所述,本研究结果显示 TBD 可以抑制 LoVo 细胞悬浮生长,诱导失巢凋亡;其作用机制与抑制整合素 $\alpha V/\beta 3$ -FAK 信号转导、诱生活性氧及活化 Caspase-8、Caspase-9 和 Caspase-3 相关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Leowattana W, Leowattana P, Leowattana T. Systemic treatment for metastatic colorectal cancer [J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(10): 1569-1588.
- [3] Khan SU, Fatima K, Malik F. Understanding the cell survival mechanism of anoikis-resistant cancer cells during different steps of metastasis [J]. Clin Exp Metastasis, 2022, 39(5): 715-726.
- [4] 宝乐日, 卢艳琳, 蔡芸芸, 等. 藤龙补中汤维持治疗对大肠癌转移抑制作用的临床研究 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2022, 30(7): 505-507, 513.
- [5] 李森, 王双双, 郑佳露, 等. 藤龙补中汤对 SW620 大肠癌转移和 Wnt/ β -catenin 通路蛋白表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(7): 4083-4085.
- [6] 王双双, 黄晓伟, 李森, 等. 藤龙补中汤对大肠癌转移和整合素-FAK-ERK1/2 通路蛋白表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(4): 1697-1699.
- [7] 胡兵, 沈克平, 史秀峰, 等. 藤梨根对 RKO 结肠癌细胞失巢凋亡的作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16): 242-245.
- [8] 胡兵, 沈克平, 史秀峰, 等. 蛇莓对人结肠癌 RKO 细胞失巢凋亡作用的实验研究 [J]. 世界中西医结合杂志,

- 2013,8(1):69-72.
- [9] Hu B, An HM, Wang SS, et al. Teng-Long-Bu-Zhong-Tang induces p21-dependent cell senescence in colorectal carcinoma LS174T cells via histone acetylation [J]. *J Exp Pharmacol*, 2017, 9: 67-72.
- [10] 黄晓伟, 安红梅, 胡兵. 现代解毒抗癌中药治疗大肠癌研究进展[J]. *环球中医药*, 2018, 11(11): 1838-1842.
- [11] Yang HL, Kuo YH, Smith ZI, et al. Targeting cancer metastasis with antibody therapeutics[J]. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2021, 13(4): e1698.
- [12] Chhichholiya Y, Suman P, Singh S, et al. The genomic architecture of metastasis in breast cancer; focus on mechanistic aspects, signalling pathways and therapeutic strategies[J]. *Med Oncol*, 2021, 38(8): 95.
- [13] Mina LA, Sledge GW Jr. Rethinking the metastatic cascade as a therapeutic target[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 8(6): 325-332.
- [14] Liu JB, Lu GZ, Liang C, et al. Roles of anoikis in colorectal cancer therapy and the assessment of anoikis-regulatory molecules as therapeutic targets[J]. *Pathol Res Pract*, 2023, 241: 154256.
- [15] Sattari F, Jalilzadeh N, Mehdizadeh A, et al. Understanding and targeting anoikis in metastasis for cancer therapies[J]. *Cell Biol Int*, 2023, 47(4): 683-698.
- [16] Yu L, Wang X, Du Y, et al. FASN knockdown inhibited anoikis resistance of gastric cancer cells via P-ERK1/2/bcl-xL pathway [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2021, 2021: 6674204.
- [17] Zheng JL, Wang SS, Shen KP, et al. Ursolic acid induces apoptosis and anoikis in colorectal carcinoma RKO cells[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2021, 21(1): 52.
- [18] Adeshakin FO, Adeshakin AO, Afolabi LO, et al. Mechanisms for modulating anoikis resistance in cancer and the relevance of metabolic reprogramming[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 626577.
- [19] Hu B, Zhang T, An HM, et al. Herbal formula YGJD-SJ inhibits anchorage-independent growth and induces anoikis in hepatocellular carcinoma Bel-7402 cells[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2018, 18(1): 17.
- [20] Chen JX, Lou Q, He L, et al. Reduced-gliotoxin induces ROS-mediated anoikis in human colorectal cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(3): 1023-1032.
- [21] Cai J, Niu X, Chen YY, et al. Emodin-induced generation of reactive oxygen species inhibits RhoA activation to sensitize gastric carcinoma cells to anoikis[J]. *Neoplasia*, 2008, 10(1): 41-51.
- [22] Tapial Martinez P, Lopez Navajas P, Lietha D. FAK structure and regulation by membrane interactions and force in focal adhesions[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 179.
- [23] Fan Z, Duan J, Wang L, et al. PTK2 promotes cancer stem cell traits in hepatocellular carcinoma by activating Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Cancer Lett*, 2019, 450: 132-143.
- [24] Chuang HH, Zhen YY, Tsai YC, et al. FAK in cancer: from mechanisms to therapeutic strategies[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1726.
- [25] Tai YL, Chen LC, Shen TL. Emerging roles of focal adhesion kinase in cancer[J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 690690.
- [26] Tvaroska I, Kozmon S, Kona J. Molecular modeling insights into the structure and behavior of integrins; a review[J]. *Cells*, 2023, 12(2): 324.
- [27] Ha SY, Shin J, Kim JH, et al. Overexpression of integrin α correlates with poor prognosis in colorectal cancer[J]. *J Clin Pathol*, 2014, 67(7): 576-581.
- [28] Sun CC, Zargham R, Shao Q, et al. Association of CD98, integrin β 1, integrin β 3 and Fak with the progression and liver metastases of colorectal cancer[J]. *Pathol Res Pract*, 2014, 210(10): 668-674.
- [29] Hasnat MA, Pervin M, Lim JH, et al. Apigenin attenuates melanoma cell migration by inducing anoikis through integrin and focal adhesion kinase inhibition [J]. *Molecules*, 2015, 20(12): 21157-21166.
- [30] Duxbury MS, Ito H, Zinner MJ, et al. Focal adhesion kinase gene silencing promotes anoikis and suppresses metastasis of human pancreatic adenocarcinoma cells [J]. *Surgery*, 2004, 135(5): 555-562.

(收稿日期: 2023-01-02)