

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2022.11.003

· 基础研究 ·

沉默N-cadherin对人牙髓干细胞增殖和迁移能力的影响

邓子龙^{1,2}, 闫文娟^{1,2}, 赵望泓^{1,2}, 吴补领^{2,3}

1. 南方医科大学南方医院口腔科, 广东 广州(510515); 2. 南方医科大学口腔医学院, 广东 广州(510515);
3. 南方医科大学深圳口腔医院(坪山)牙体牙髓病科, 广东 深圳(518118)

【摘要】 目的 探讨沉默N-cadherin对人牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)增殖和迁移能力的影响, 为基于DPSCs的牙髓再生提供实验依据。**方法** 采用N-cadherin shRNA慢病毒转染DPSCs, qRT-PCR、Western blot检测N-cadherin的表达水平, 验证沉默效率。实验分为阴性对照组(shRNA-NC)和N-cadherin shRNA沉默组。采用CCK-8法检测细胞增殖能力, 流式细胞术检测细胞周期和细胞凋亡情况, Transwell法检测细胞迁移能力。**结果** N-cadherin shRNA可显著降低DPSCs的N-cadherin mRNA和蛋白的表达水平($P < 0.001$)。N-cadherin shRNA组细胞增殖活性分别在细胞接种的第3、4天高于shRNA-NC组, 第6~8天低于shRNA-NC组, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$); 在第3天时, N-cadherin shRNA组处于S期和G2期的细胞比例大于shRNA-NC组($P < 0.05$); 在第6天时, N-cadherin shRNA组细胞处于S期和G2期的比例小于shRNA-NC组($P < 0.05$), 同时N-cadherin shRNA组凋亡细胞比例大于shRNA-NC组($P < 0.01$); 分别以低细胞密度和高细胞密度接种于Transwell上室培养20 h, N-cadherin shRNA组穿过Transwell上室小孔的细胞数量均多于shRNA-NC组($P < 0.001$)。**结论** 沉默N-cadherin表达可促进DPSCs早期的增殖和迁移能力。

【关键词】 牙髓干细胞; 增殖; 迁移; N-cadherin; 牙髓再生; 细胞周期; 细胞凋亡; 慢病毒; 微环境

【中图分类号】 R78 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2022)11-0779-06

【引用著录格式】 邓子龙, 闫文娟, 赵望泓, 等. 沉默N-cadherin对人牙髓干细胞增殖和迁移能力的影响[J]. 口腔疾病防治, 2022, 30(11): 779-784. doi:10.12016/j.issn.2096-1456.2022.11.003.

Effects of N-cadherin silencing on the proliferation and migration of human dental pulp stem cells

DENG Zilong^{1,2}, YAN Wenjuan^{1,2}, ZHAO Wanghong^{1,2}, WU Buling^{2,3}. 1. Department of Stomatology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. College of Stomatology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 3. Department of Operative Dentistry and Endodontics, Shenzhen Stomatology Hospital (Pingshan), Southern Medical University, Shenzhen 518118, China

Corresponding author: WU Buling, Email: bulingwu@smu.edu.cn, Tel: 86-755-89661906

【Abstract】 Objective To investigate the effects of N-cadherin silencing on the proliferation and migration of human dental pulp stem cells (DPSCs) and to provide experimental evidence for DPSCs-based dental pulp regeneration.

Methods DPSCs were transfected with N-cadherin shRNA lentivirus, and the knockdown efficiency of N-cadherin at both the mRNA and protein levels was confirmed by qRT-PCR and Western blot. The experiment included a negative control group (shRNA -NC) and an N-cadherin shRNA silencing group. Cell proliferation was detected by the CCK-8 method. Cell cycle and apoptosis were assessed by flow cytometry, and cell migration was detected using the Transwell method. **Results** N-cadherin shRNA significantly reduced the expression levels of N-cadherin mRNA and protein in DPSCs ($P < 0.001$). The proliferation activity of the N-cadherin shRNA group was significantly greater than that of the shRNA-NC group on the 3rd and 4th days after cell inoculation and lower than that of the shRNA-NC group from the

【收稿日期】 2022-03-27; **【修回日期】** 2022-05-22

【基金项目】 国家自然科学基金项目(82100997)

【作者简介】 邓子龙, 主治医师, 博士, Email: zldeng@yeah.net

【通信作者】 吴补领, 教授, 博士, Email: bulingwu@smu.edu.cn, Tel: 86-755-89661906



微信公众号

6th to 8th days ($P < 0.05$). On the 3rd day after cell inoculation, the proportion of cells in S phase and G2 phase in the N-cadherin shRNA group was greater than that in the shRNA-NC group ($P < 0.05$). On the 6th day after cell inoculation, the proportion of cells in S phase and G2 phase in the N-cadherin shRNA group was lower than that in the shRNA-NC group ($P < 0.05$), and the proportion of apoptotic cells in the N-cadherin shRNA group was greater than that in the shRNA-NC group ($P < 0.01$). Low densities cells and high densities cells were inoculated into Transwell upper chamber for 20 h, the number of cells passing through the membrane pores of upper chamber in the N-cadherin shRNA group was greater than that in the shRNA-NC group ($P < 0.001$). **Conclusion** Silencing N-cadherin expression can promote the early proliferation and migration of DPSCs.

【Key words】 dental pulp stem cells; proliferation; migration; N-cadherin; dental pulp regeneration; cell cycle; cell apoptosis; lentivirus; microenvironment

J Prev Treat Stomatol Dis, 2022, 30(11): 779-784.

【Competing interests】 The authors declare no competing interests.

This study was supported by the grants from National Natural Science Foundation of China (No. 82100997).

近年来,基于牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSCs)的牙髓再生是一个研究热点^[1]。DPSCs作为牙髓再生的重要种子细胞,其生物学特性受到复杂因素的调控^[2]。间充质干细胞的再生潜能很大程度上取决于其所处的由各种组织成分、细胞群体和可溶性因子组成的微环境^[3]。钙黏蛋白(cadherins)是一类钙依赖性的黏附分子,目前在人类中已鉴定出100多种,分为11个亚家族^[4]。它们具有不同的组织分布,E-cadherin主要表达于上皮细胞,N-cadherin则主要表达于间充质细胞^[5]。N-cadherin属于单次跨膜糖蛋白,其胞外结构域以钙离子依赖性的方式介导钙黏蛋白分子之间的相互作用,形成细胞间黏附连接;其胞内结构域不仅与细胞骨架蛋白相连从而使细胞锚定,而且与黏着斑蛋白、 α -catenin和 β -catenin等多种信号分子相互作用,调节细胞内信号转导,参与细胞增殖、凋亡、迁移和分化等生理过程^[6-7]。本课题组前期研究显示,N-cadherin表达于人DPSCs^[8],沉默N-cadherin可在体内外促进DPSCs成牙本质向分化^[9]。然而,N-cadherin是否可以调控DPSCs的增殖和迁移能力,尚未见报道。因此,本研究探讨沉默N-cadherin对人DPSCs增殖和迁移能力的影响。

1 材料和方法

1.1 主要试剂与仪器

胎牛血清、青霉素、链霉素、DMEM培养基(Gibco,美国);PrimeScript™ RT Master Mix试剂盒、SYBR® Premix Ex Taq™试剂盒(Takara,日本);蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂PMSF、磷酸酶抑制剂、BCA蛋白浓度测定试剂盒(碧云天,中国);N-

-cadherin抗体(Santa Cruz,美国);GAPDH抗体、羊抗兔IgG二抗(Abcam,美国);CCK-8试剂(同仁,日本);细胞凋亡检测试剂盒、细胞周期检测试剂盒(凯基,中国);Transwell小室(Corning,美国);CO₂恒温培养箱(Thermo Forma 311,Thermo,美国);微量分光光度计(NanoDrop 2000,Thermo,美国);MD多功能酶标仪(SpectraMax M5,Molecular Devices,美国);流式细胞仪(FACSCanto II,BD,美国);实时荧光定量PCR系统(Light Cycler 480,Roche,瑞士);倒置相差显微镜(IX71,Olympus,日本)。

1.2 方法

1.2.1 DPSCs培养 本实验关于人离体牙及DPSCs的使用已获得南方医科大学南方医院医学伦理委员会的批准(审批号:NFEK-2017-017)。在签署知情同意书的前提下,于南方医院口腔颌面外科门诊收集13~18岁因正畸需要而拔除的健康前磨牙,采用改良组织块酶消化法分离培养人DPSCs^[10]。将DPSCs接种于含有10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的DMEM培养基中,放置于37℃、5%CO₂的孵箱中培养。使用第3代或第4代DPSCs进行实验。

1.2.2 慢病毒转染 本实验所使用慢病毒由上海吉凯基因公司提供,慢病毒载体为GV248,元件顺序为hU6-MCS-Ubiquitin-EGFP-IRES-puromycin。N-cadherin shRNA沉默组干扰靶点序列为5'-AGT-GACTATTAAGAGAAAT-3',阴性对照组(shRNA-NC)靶点序列为5'-TTCTCCGAACGTGTCACGT-3'。将DPSCs以 3×10^4 个/mL密度接种于6孔板,慢病毒以50:1的感染复数加入细胞中,10h后更换病毒液为正常培养基,继续培养72h后检测转染效率。

1.2.3 qRT-PCR检测N-cadherin的mRNA表达 慢病毒转染 DPSCs 72 h后, Trizol法提取细胞总RNA, NanoDrop测定RNA纯度、浓度, 使用Prime-Script™ RT Master Mix试剂盒将RNA逆转录合成cDNA, 以SYBR® Premix Ex Taq™试剂盒进行实时荧光定量PCR反应, 以GAPDH作为对照, 目的基因的相对表达量通过 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算。相关基因的引物序列见表1。

表1 qRT-PCR引物序列

Table 1 The primer sequences of qRT-PCR

Gene		Primer sequence (5'-3')
N-cadherin	Forward	TCTGGGTCTGTTTATTACTCTCTGG
	Reverse	GCGAGCTGATGACAAATAGCG
GAPDH	Forward	TCACCAGGGCTGCTTTTAAC
	Reverse	GACAAGCTTCCCCTTCTCAG

1.2.4 Western blot检测N-cadherin蛋白表达 慢病毒转染 DPSCs 72 h后, 使用含有蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液提取细胞总蛋白, BCA法检测总蛋白浓度, 蛋白样品经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 转至聚偏二氟乙烯膜上, 脱脂奶粉室温封闭2 h, 加入N-cadherin (1:1 000)、GAPDH (1:2 000)一抗, 4℃摇动孵育过夜, 然后加入相应二抗 (1:5 000) 室温摇动孵育1 h, 洗膜后化学发光显影并拍照记录, Image J软件进行蛋白条带灰度分析。

1.2.5 CCK-8法检测细胞增殖 将shRNA-NC组和N-cadherin shRNA组 DPSCs以 3×10^3 个/孔的密度接种于96孔板中, 于第1~8天进行检测, 每个时间点设置6个复孔。加入10 μ L/孔CCK-8试剂, 避光孵育2 h, 酶标仪检测450 nm波长处的OD值。

1.2.6 流式细胞术检测细胞周期 收集培养至第3天和第6天的shRNA-NC组和N-cadherin shRNA组 DPSCs, 加入70%乙醇在4℃条件下固定过夜, PBS洗去固定液, 1 000 rpm离心3 min; 将细胞周期检测试剂盒中的RNase A和PI以1:9的体积比例配制染色工作液; 在上述细胞样品中加入500 μ L新鲜配制的RNase A/PI染色工作液, 在室温避光环境下反应30 min, 上机进行流式细胞仪检测, 记录激发波长488 nm处红色荧光。

1.2.7 流式细胞术检测细胞凋亡 收集培养至第3天和第6天的shRNA-NC组和N-cadherin shRNA组 DPSCs, PBS洗涤, 按照细胞凋亡检测试剂盒加入5 μ L Annexin V-EGFP混匀, 再加入5 μ L PI混匀, 在室温避光环境下反应15 min, 在1 h内上机进

行流式细胞仪检测。

1.2.8 Transwell法检测细胞迁移能力 shRNA-NC组和N-cadherin shRNA组 DPSCs以 2×10^4 个(代表低密度)和 5×10^4 个(代表高密度)的数量接种于Transwell小室的上室, 上室加入不含血清的DMEM培养基, 下室加入含有10% FBS的DMEM培养基, 将细胞放置于孵箱培养20 h。用棉签拭去上室表面的细胞, 上室底面的细胞则采用无水甲醇固定15 min, PBS漂洗后, 对其进行结晶紫染色, 室温孵育15 min, PBS漂洗至液体澄清。显微镜下观察, 拍照记录实验结果, 随机选取5个视野进行细胞计数。

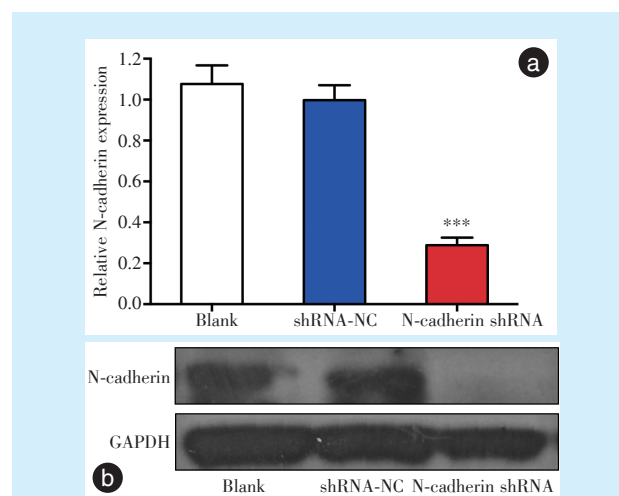
1.3 统计学分析

采用SPSS 21.0软件进行统计分析, 计量资料数据以均数 \pm 标准差表示, 两组间比较用 t 检验, 多组间比较用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 稳定低表达N-cadherin DPSCs的构建

转染慢病毒后72 h, 采用qRT-PCR和Western blot分别从mRNA和蛋白水平检测 DPSCs中N-cadherin的表达水平。结果显示, N-cadherin shRNA组N-cadherin的表达水平显著低于shRNA-NC组和blank组 ($F = 80.76, P < 0.001$) (图1)。



a & b: DPSCs were transfected with either the N-cadherin shRNA or negative control shRNA lentivirus. The expression levels of N-cadherin mRNA and protein were detected by qRT-PCR (a) and Western blot (b), respectively. ***: $P < 0.001$ compared with the shRNA-NC group. DPSCs: dental pulp stem cells

Figure 1 Stable downregulation of N-cadherin in DPSCs

图1 稳定低表达N-cadherin DPSCs的构建

2.2 沉默 N-cadherin 对 DPSCs 增殖能力的影响

与 shRNA-NC 组相比, N-cadherin shRNA 组细胞增殖活性在第 1、2、5 天变化无统计学意义 ($P > 0.05$), 第 3、4 天细胞增殖活性增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 第 6、7、8 天 ($P < 0.05$) 细胞增殖活性降低 (图 2)。

2.3 沉默 N-cadherin 对 DPSCs 细胞周期的影响

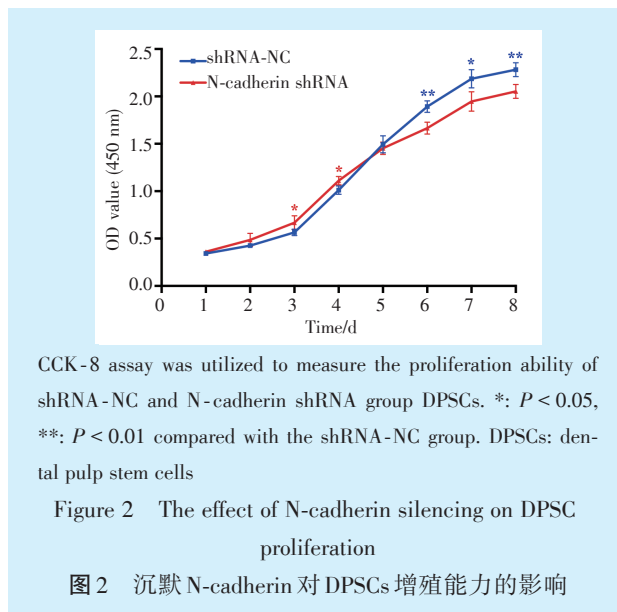
在细胞接种后第 3 天, 与 shRNA-NC 组相比, N-cadherin shRNA 组细胞处于 G1 期的比例降低, 处于 S 期和 G2 期的比例升高, 差异均具有统计学意义 ($t = 3.959, P < 0.05$) (图 3); 细胞接种后第 6 天, N-cadherin shRNA 组细胞处于 G1 期的比例大于 shRNA-NC 组, N-cadherin shRNA 组细胞处于 S 期和 G2 期的比例则低于 shRNA-NC 组 ($t = 3.763, P < 0.05$) (图 3)。

2.4 沉默 N-cadherin 对 DPSCs 凋亡的影响

在细胞接种后的第 3 天, shRNA-NC 组与 N-cadherin shRNA 组间凋亡细胞比例差异无统计学意义 ($t = 1.322, P > 0.05$) (图 4); 在细胞接种后的第 6 天, N-cadherin shRNA 组凋亡细胞比例大于 shRNA-NC 组, 差异具有统计学意义 ($t = 6.166, P < 0.01$) (图 4)。

2.5 沉默 N-cadherin 对 DPSCs 迁移能力的影响

在低细胞密度时, N-cadherin shRNA 组穿过小孔的细胞数量多于 shRNA-NC 组, 差异具有统计学意义 ($t = 8.81, P < 0.001$); 在高细胞密度时, N-cad-



herin shRNA 组穿过小孔的细胞数量亦多于 shRNA-NC 组 ($t = 15.5, P < 0.001$) (图 5)。

3 讨论

N-cadherin 可通过多种信号通路调节细胞增殖、凋亡、迁移和分化等生物学行为。本研究结果显示, 沉默 DPSCs 中 N-cadherin 的表达后, 细胞的增殖活性呈现早期增高后期减低的趋势; 在 DPSCs 增殖早期, 沉默 N-cadherin 的表达可通过促进细胞周期进展从而增加细胞的增殖活性; 而在 DPSCs

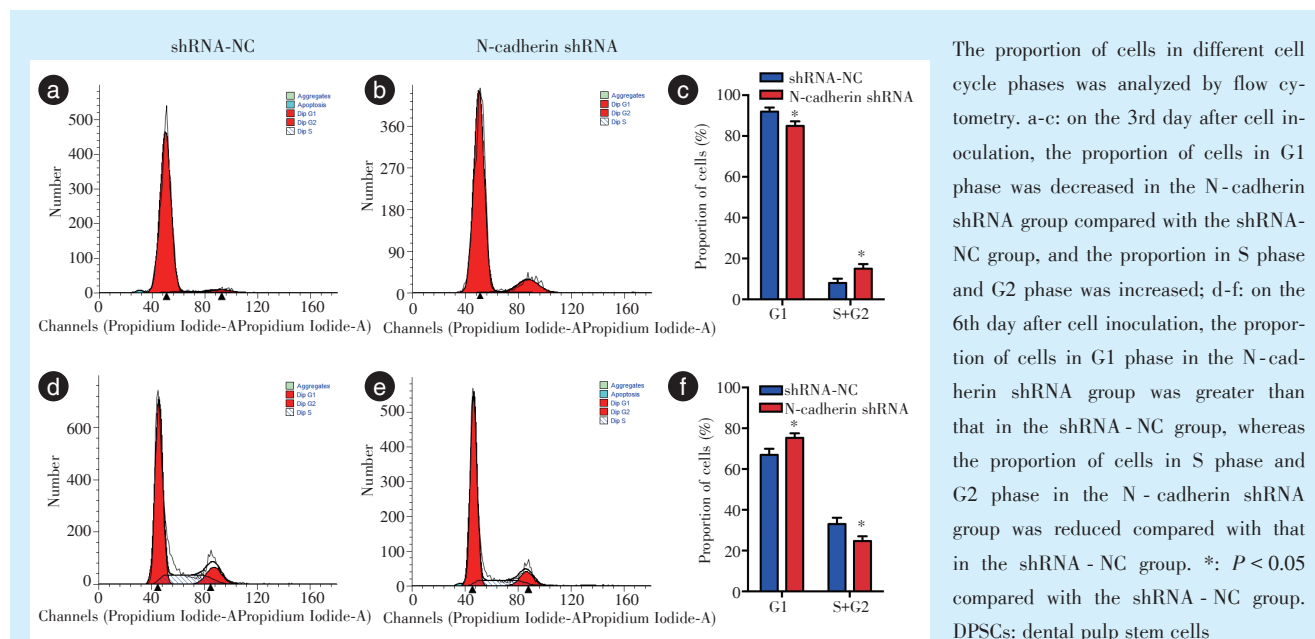
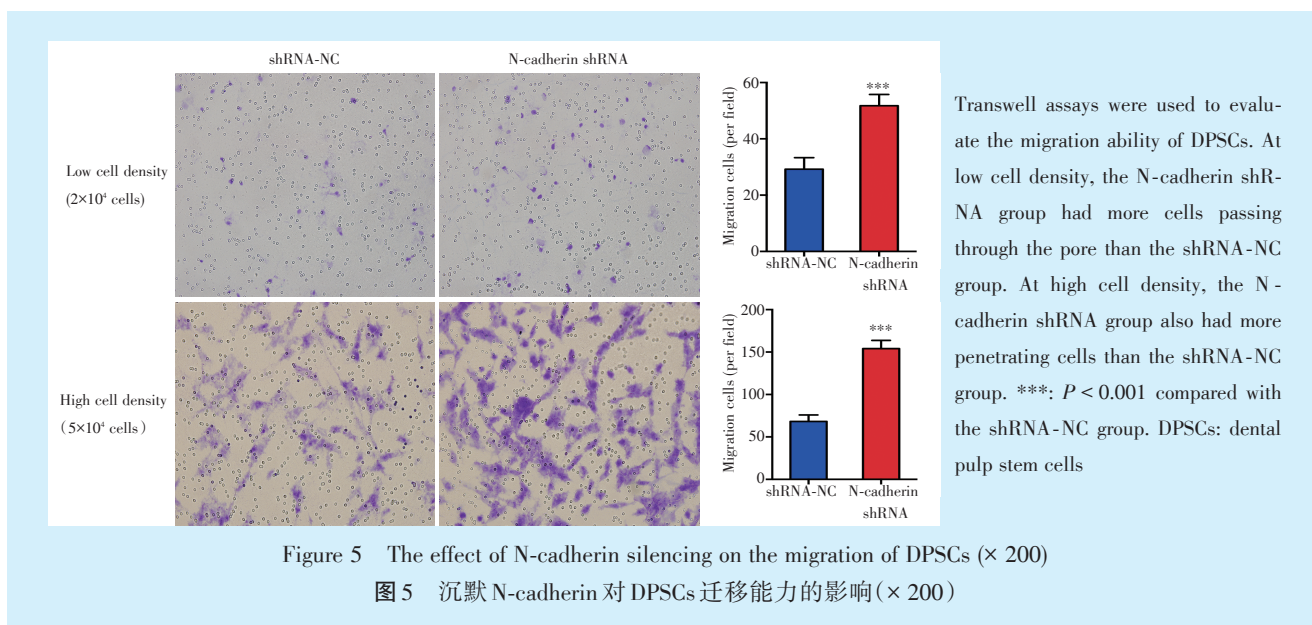
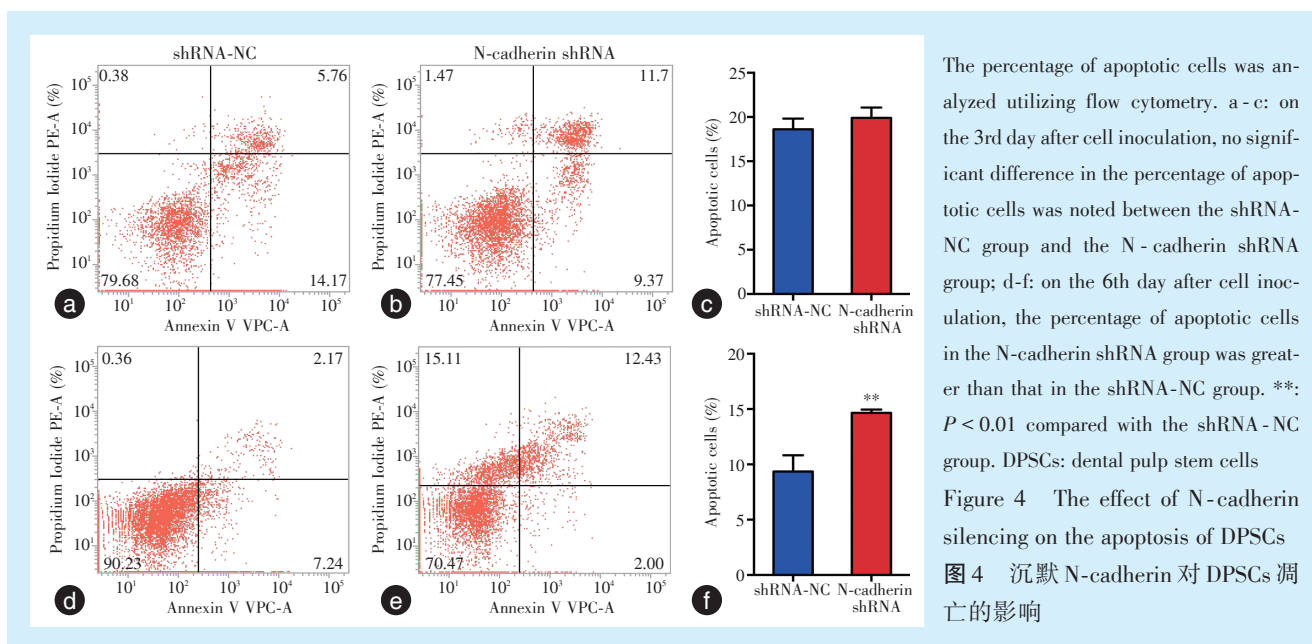


Figure 3 The effect of N-cadherin silencing on the cell cycle of DPSCs

图 3 沉默 N-cadherin 对 DPSCs 细胞周期的影响



增殖后期,沉默N-cadherin的表达可通过促进细胞凋亡和阻碍细胞周期进展从而降低细胞的增殖活性。

研究表明,细胞密度影响细胞的生物学特性,细胞活性和增殖能力随着细胞融合度的增加而增强,在80%融合度时达到顶峰,而在达到100%细胞汇合时则明显下降^[11-12]。值得关注的是,随着时间的推移,骨髓间充质干细胞的密度增加,N-cadherin的表达水平则明显下降^[13]。在体外和体内过表达N-cadherin均可抑制成骨细胞增殖,促进细胞凋亡^[14]。这些结果提示N-cadherin可能对细胞的增殖能力起负性调节作用,这也与本研究结果一致,即在细胞未达到100%融合度时,沉默N-cad-

herin的表达可促进DPSCs的增殖活性,但在细胞达到100%融合度后,沉默N-cadherin的表达不仅可促进细胞凋亡,而且可阻碍细胞周期进展,从而降低细胞的增殖活性,这可能与细胞由增殖转向分化有关^[15],本课题组前期研究也显示,沉默N-cadherin可在体内外促进DPSCs成牙本质向分化^[9]。本研究证明沉默DPSCs中N-cadherin的表达可改变细胞周期和凋亡从而影响早期和后期的细胞增殖活性,并推测早期与后期细胞密度的不同可能在其中起着决定性的作用。然而,仍需进一步通过检测不同细胞密度条件下DPSCs中N-cadherin的表达水平以及研究其中的分子机制为上述推测提供更多证据。

本研究发现,沉默 N-cadherin 表达无论是在低细胞密度还是在高细胞密度时均可促进细胞迁移能力。N-cadherin 对细胞迁移的能力的作用受到不同细胞来源的影响。N-cadherin 在上皮源性肿瘤细胞的侵袭转移方面发挥重要作用,通常作为肿瘤细胞获得侵袭转移能力的标志^[16-17]。然而,在间充质来源的小鼠骨肉瘤细胞系中,N-cadherin 呈现出低表达水平,过表达 N-cadherin 可抑制体外细胞的迁移能力以及体内肺转移的能力^[18]。因此,DPSCs 来源于间充质的属性有可能决定了沉默 N-cadherin 对 DPSCs 迁移能力的促进作用。

综上所述,沉默 N-cadherin 可促进 DPSCs 增殖、迁移,当细胞达到融合后则转向成牙本质向分化,从而促进牙髓-牙本质复合体再生,但其中的分子机制需要更深入的探索。

[Author contributions] Deng ZL performed the research, and wrote the article. Yan WJ, Zhao WH revised the article. Wu BL designed the study. All authors read and approved the final manuscript as submitted.

参考文献

- [1] Sui B, Chen C, Kou X, et al. Pulp stem cell-mediated functional pulp regeneration[J]. *J Dent Res*, 2019, 98(1): 27-35. doi: 10.1177/0022034518808754.
- [2] 胡慧婷, 于凤麟, 赵月萍. 牙髓干细胞生物学特性影响因素的研究进展[J]. *口腔疾病防治*, 2019, 27(4): 268-272. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2019.04.013.
Hu HT, Yu FL, Zhao YP. Research progress on the factors influencing the biological characteristics of dental pulp stem cells [J]. *J Prev Treat Stomatol Dis*, 2019, 27(4): 268-272. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2019.04.013.
- [3] Sui B, Wu D, Xiang L, et al. Dental pulp stem cells: from discovery to clinical application[J]. *J Endod*, 2020, 46(9s): S46-S55. doi: 10.1016/j.joen.2020.06.027.
- [4] Ismail SG, Paco H, Saeys Y, et al. Evolution and diversity of cadherins and catenins[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 358(1): 3-9. doi: 10.1016/j.yexcr.2017.03.001.
- [5] Blaschuk OW. Potential therapeutic applications of N-cadherin antagonists and agonists [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 866200. doi: 10.3389/fcell.2022.866200.
- [6] Sisto M, Ribatti D, Lisi S. Cadherin signaling in cancer and autoimmune diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(24): 13358. doi: 10.3390/ijms222413358.
- [7] Barcelona-Estaje E, Dalby MJ, Cantini M, et al. You talking to me? cadherin and integrin crosstalk in biomaterial design[J]. *Adv Healthc Mater*, 2021, 10(6): e2002048. doi: 10.1002/adhm.202002048.
- [8] 邓子龙, 吴补领, 闫文娟, 等. 钙黏蛋白在地塞米松诱导的人牙髓细胞成牙本质向分化中的表达研究[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2016, 26(7): 396-400. doi: 10.15956/j.cnki.chin.j.conserv.dent.2016.07.002.
- [9] Deng ZL, Wu BL, Yan WJ, et al. Expression of cadherins in dexamethasone-induced odontoblastic differentiation of human dental pulp cells [J]. *China J Conserv Dent*, 2016, 26(7): 396-400. doi: 10.15956/j.cnki.chin.j.conserv.dent.2016.07.002.
- [9] Deng Z, Yan W, Dai X, et al. N-Cadherin regulates the odontogenic differentiation of dental pulp stem cells via β -Catenin activity [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 661116. doi: 10.3389/fcell.2021.661116.
- [10] 刘影, 高杰, 吴补领. 改良组织块酶消化法原代培养人牙髓干细胞的研究[J]. *口腔疾病防治*, 2018, 26(3): 166-170. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2018.03.005.
Liu Y, Gao J, Wu BL. Primary culture of hPDSCs with modified enzymatic digestion - explants method [J]. *J Prev Treat Stomatol Dis*, 2018, 26(3): 166-170. doi: 10.12016/j.issn.2096-1456.2018.03.005.
- [11] Nakamura K, Tsuji K, Mizuno M, et al. Initial cell plating density affects properties of human primary synovial mesenchymal stem cells[J]. *J Orthop Res*, 2019, 37(6): 1358-1367. doi: 10.1002/jor.24112.
- [12] Azraq I, Craveiro RB, Niederau C, et al. Gene expression and phosphorylation of ERK and AKT are regulated depending on mechanical force and cell confluence in murine cementoblasts[J]. *Ann Anat*, 2021, 234: 151668. doi: 10.1016/j.aanat.2020.151668.
- [13] Sarem M, Otto O, Tanaka S, et al. Cell number in mesenchymal stem cell aggregates dictates cell stiffness and chondrogenesis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 10. doi: 10.1186/s13287-018-1103-y.
- [14] Hay E, Nouraud A, Marie PJ. N-cadherin negatively regulates osteoblast proliferation and survival by antagonizing Wnt, ERK and PI3K/Akt signalling[J]. *PLoS One*, 2009, 4(12): e8284. doi: 10.1371/journal.pone.0008284.
- [15] Wu SH, Liao YT, Huang CH, et al. Comparison of the confluence-initiated neurogenic differentiation tendency of adipose-derived and bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Biomedicine*, 2021, 9(11): 1503. doi: 10.3390/biomedicine9111503.
- [16] Luo Y, Yu T, Zhang Q, et al. Upregulated N-cadherin expression is associated with poor prognosis in epithelial-derived solid tumours: a meta-analysis[J]. *Eur J Clin Invest*, 2018, 48(4): e12903. doi: 10.1111/eci.12903.
- [17] Mrozik KM, Blaschuk OW, Cheong CM, et al. N-cadherin in cancer metastasis, its emerging role in haematological malignancies and potential as a therapeutic target in cancer[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 939. doi: 10.1186/s12885-018-4845-0.
- [18] Kashima T, Nakamura K, Kawaguchi J, et al. Overexpression of cadherins suppresses pulmonary metastasis of osteosarcoma *in vivo* [J]. *Int J Cancer*, 2003, 104(2): 147-154. doi: 10.1002/ijc.10931.

(编辑 罗燕鸿, 曾曙光)



官网