

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.24.006

激活 FXR 抑制结肠癌细胞浸润转移及 MMP-7 的表达 *

张超峰¹ 罗天航¹ 钮宏文² 邓琳² 祝涛² 方国恩^{1Δ}

(1 海军军医大学附属长海医院 普外科 上海 200433; 2 上海中医药大学附属曙光医院 急诊创伤外科 上海 201203)

摘要 目的:探讨法尼酯 X 受体(FXR)特异性激动剂 GW4064 抑制结肠癌细胞浸润转移的机制。**方法:**在体外培养人结肠癌细胞 HT-29,应用 GW4064 作用于结肠癌细胞,以四唑氮蓝还原法(MTT)检测细胞活性的变化。用 transwell 小室研究结肠癌细胞的迁移及浸润。用 RT-PCR 检测 FXR mRNA 及 MMP-7 mRNA 表达的变化,用 western blot 检测 FXR 及 MMP-7 蛋白表达的变化。**结果:**MTT 结果显示 GW4064 作用于人结直肠 HT-29 细胞的生长抑制率呈浓度依赖性;transwell 小室结果显示 GW4064 抑制结肠癌细胞的浸润转移,与对照组相比,差异具有统计学意义($P<0.05$),RT-PCR 及 Western blot 显示 GW4064 促进 FXR mRNA 及蛋白表达,抑制 MMP-7 mRNA 及蛋白的表达,与对照组相比差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**GW4064 抑制结肠癌细胞的生长及转移,上调 HT-29 细胞 FXR mRNA 及蛋白的表达,下调 HT-29 细胞 MMP-7 mRNA 及蛋白的表达。FXR 被激活后抑制结肠癌细胞转移,MMP-7 可能是其作用通路之一。

关键词:结肠癌;法尼酯 X 受体;肿瘤浸润转移;基质蛋白酶-7

中图分类号:R-33;R735.35;R730.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)24-4633-05

Activation of Farnesoid X Receptor Inhibited the Infiltration and Metastasis and MMP-7's Expression of Colon Cancer Cells*

ZHANG Chao-feng¹, LUO Tian-hang¹, NIU Hong-wen², DENG Lin², ZHU Tao², FANG Guo-en^{1Δ}

(1 Department of General Surgery, Chang hai Hospital, Navy Military University Medical, Shanghai, 200433, China;

2 Department of emergency and traumatic surgery, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 201203, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the mechanism of the farnesoid X receptor (FXR) activation by GW4064 to inhibit the growth of colon cancer cells. **Methods:** The effects of specific FXR agonist (GW4064) on the growth of HT-29 cells were studied in vitro by MTT. The infiltration and metastasis of HT-29 cells were detected by the transwell inserts. The mRNA expression of FXR and MMP-7 were determined by RT-PCR, The protein expression of FXR and MMP-7 were measured by Western blot. **Results:** MTT results showed that the growth inhibition rate of GW4064 in human colorectal HT-29 cells was concentration dependent; Transwell inserts results showed that GW4064 inhibited the invasion and metastasis of colon cancer cells. Compared with the control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). RT-PCR and Western blot display GW4064 promoted FXR mRNA and protein expression and inhibited the expression of MMP-7. The expression of mRNA and protein was significantly different from that of the control group ($P<0.05$). **Conclusion:** GW4064 inhibited metastasis of colon cancer cells. The expression of mRNA and protein of FXR was up-regulated by FXR specific agonist in cell line HT-29, and MMP-7 is just opposite. The activation of FXR may inhibit the metastasis of colon cancer cells by inhibiting MMP-7.

Key words: Colon carcinoma; Farnesoid X receptor; Neoplasm invasiveness and metastasis; Matrix metalloproteinase-7

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.35; R730.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)24-4633-05

前言

结肠癌是全球第三高发恶性肿瘤,其发病率和死亡率均有升高的趋势,有报道 20%的患者在初诊时已发现有同时性肝转移^[1],行根治术后有 25%~40%的患者发生异时性肝转移^[2]。然而结肠癌的转移机制目前尚不明确。流行病学统计发现高脂饮食可以增加结肠癌发病风险,目前越来越多研究认为肠道代谢与

微环境平衡是结肠肿瘤发病的关键因素,而高脂饮食可以增加肝脏分泌胆汁,从而增加结肠中胆汁酸的浓度,从而改变肠道微环境,近来有研究发现胆汁酸可以影响结肠癌发病风险^[3],胆汁酸可以促进脂肪,胆固醇及脂溶性维生素的吸收,肠道上皮细胞的增殖、代谢及基因表达的平衡是细胞转化的关键因素,当细胞代谢的平衡被破坏,则可能会引起炎症甚至肿瘤,而法尼酯 X 受体(FXR)是胆汁酸的核受体,通过调控一系列基因表

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81671886)

作者简介:张超峰(1982-),博士研究生,主治医师,研究方向:胃肠肿瘤,电话:17717620481, E-mail: peakerzhang@163.com

Δ 通讯作者:方国恩,主任医师,博士生导师,电话:13671650481, E-mail: fangguoen666@126.com

(收稿日期:2018-06-06 接受日期:2018-06-30)

达,可以反馈性调控细胞内胆汁酸浓度,参与调节胆汁酸的肠肝循环,在糖、胆汁酸、胆固醇等代谢过程中起重要作用^[4],近来研究发现 FXR 与结肠癌的关系密切,FXR 在结肠癌组织中表达的高低不仅与患者预后有关系,而且可以发现激活 FXR 可以抑制结肠癌细胞的生长^[5],而 FXR 与结肠细胞生长转移的相关机制尚不明确。因此我们设计一下实验进一步探讨 FXR 与结肠癌关系。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

酶标仪购自 BIO RAD 公司;稳压电泳仪购自美国 BIO RAD 公司;POWER PAC 200 型,1420 multilabel counter;PCR 仪器购自 ABI 公司,thermal cycler 2720 型;UV2000 紫外分析仪购自天能仪器有限公司。

1.2 主要试剂

人结肠癌细胞株 HT-29 由复旦大学肿瘤研究所赠给,DMEM、胎牛血清(FBS)和 PBS 购自美国 GIBCO 公司,transwell 小室购自 Corning 公司,四唑氮蓝(MTT)购自 Sigma 公司,FXR 特异性激动剂 GW4064 购自 Tocris 公司,逆转录 PCR 试剂盒购自 Famentus 公司,RNA 抽提 Trizoll 试剂购自 Invitrogen 公司,PCR 试剂盒购自 Takara 公司,引物序列均由上海生物工程有限责任公司合成,兔抗人 FXR 抗体(sc-13063)购自 Santa Crus 公司,鼠抗人 GAPDH 购自 Santa Crus 公司,即用型非生物素广谱二抗(加强型)购自上海长岛生物技术有限公司,货号 D3004p。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 HT-29 结肠癌细胞系培养于 10%FBS DMEM 培养基中,将培养瓶放入 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。当细胞融合度为培养瓶的 80%时,用 0.05%胰酶消化传代培养。

1.3.2 四唑氮蓝还原法(MTT)探索 GW4064 最佳作用浓度 将 GW4064 溶解于 DMSO 中,制成不同浓度的 GW4064。将 HT-29 结肠细胞悬液按 7×10^3 个/孔接种于 96 孔板。用 10% FBS DMEM 培养基孵育 24 小时后,培养基换成含 1%FBS DMEM 培养基 200 μ L。GW4064 设 0 μ mol/L,0.1 μ mol/L,1 μ mol/L、3 μ mol/L、5 μ mol/L、7 μ mol/L、10 μ mol/L 不同作用组,各作用组重复 5 孔,培养 72 小时后,各孔分别加 20 μ L 5 mg/mL MTT。继续孵育 4 小时,弃培养基,各孔内加入 150 μ L 二甲亚砜,用酶标仪检测 570 nm OD 值。以加样孔与对照孔的吸光度比值测定细胞活力,即:细胞活力 = 加样孔 OD 值 / 对照组 OD 值 $\times$ 100%,并计算半数细胞抑制浓度(IC₅₀)。

1.3.3 Transwell 小室检测对结肠癌细胞 HT-29 侵袭能力的影响 饥饿结肠癌细胞 24 h 后,消化细胞制成细胞悬液,取 2×10^5 个 HT-29 细胞,放入 transwell 小室,同时将不同浓度 0 μ mol/L(对照组)、1 μ mol/L、5 μ mol/L、7 μ mol/L 的 GW4064 加入不同的小室内,每组均重复 3 次,下室内加入含血清培养液,培养 48 h 小时后,计数穿透基膜的肿瘤细胞,以相对细胞转移率测定 GW4064 对细胞侵袭能力的影响,相对细胞转移率 = 作用组转移细胞数 / 对照组转移细胞数 $\times$ 100%。

1.3.4 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)研究 FXR、MMP-7 mRNA 的表达 将 HT-29 细胞悬液,铺 6 孔板, 4×10^5 个/孔,

GW4064 设 0 μ mol/L,1 μ mol/L、5 μ mol/L 作用组。在培养箱内孵育,GW4064 作用 24 小时后,提取 RNA,提取的 RNA 立即用于逆转录,将 1 μ L Oligo dT(0.5 μ g/ μ L) 和 2.0 μ g Total RNA 加入到 PCR 小管中,逆转录合成 cDNA 链。再以 2 μ g cDNA 作为模板,分别加入引物,各引物序列分别为 GAPDH: forward 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3' reverse 5'-TGGTGAAGACGCCAGTGGGA-3', MMP-7: forward: 5'-GGAGATGC- TCACTTCGATGA -3' reverse 5'-ATACCCAAAGAATGGCCAAG -3', FXR: forward 5'-AACAATCCAAGGAGGTAGAAGAC-3' reverse 5'-GAAGAAATCCAGGAACTAAGAG-3',反应条件为,预变性 95℃,1 分钟;之后每一步变性 95℃,30 秒;退火 55℃,30 秒;延伸 72℃,1 分钟;共进行 40 个循环。各组取 5 μ L PCR 产物与 DNA 上样缓冲液混匀后放入凝胶中电泳。电压 80 伏,50 分钟后,用紫外灯观察条带的位置,用凝胶扫描仪进行拍照。电泳条带用 BandsScan 5.0 软件分析。实验结果分析:FXR 表达量 = FXR 灰度值 / GAPDH 灰度值 $\times$ 100%。MMP-7 表达量 = MMP-7 灰度值 / GAPDH 灰度值 $\times$ 100%。

1.3.5 用蛋白免疫印迹法(western blot)检测 FXR、MMP-7 蛋白的表达 将 HT-29 细胞悬液,按 4×10^5 个/孔铺 6 孔板, GW4064 设 0 μ mol/L,1 μ mol/L、5 μ mol/L 作用组。在培养箱内孵育 24 小时后,消化细胞,预先将 PMSF 10 μ L 加入 1 mL 蛋白裂解缓冲液 RIPA 中,取约 1×10^7 个细胞加入预先配制的 RIPA,低温裂解 30 min,然后在 4℃下 10000 $\times$ g 离心 10 min,取上清。用 Bradford 比色法测定蛋白质浓度,根据标准曲线计算出蛋白浓度。灌制 SDS-PAGE 凝胶。取相同质量的细胞裂解液(体积 $\times$ 蛋白质浓度),并加等体积的 2 $\times$ 电泳加样缓冲液,恒压 90 V,约 40 min。电泳时溴酚蓝到达胶的底端处附近即停止电泳。然后将蛋白从凝胶转至 PVDF 膜,40 V 电压转膜 30 min,用 5%的脱脂奶粉/TBS-T 混合液在 4℃温度下封闭过夜。PVDF 膜,5%的脱脂奶粉/TBS-T 按 1:600 稀释 FXR 抗体,4℃孵育过夜。加入 Western 洗涤液,在侧摆摇床上缓慢摇动洗涤 5-10 分钟,洗 3 次,然后加入 1:2000 稀释的二抗,常温孵育 1 h 后,同样洗涤 3 次,再加入增强化学显影剂。应用 UVI 凝胶成像系统摄像,Image-Pro Plus5.0 软件分析条带灰度值,用 FXR/GAPDH 代表 FXR 的相对表达量。MMP-7 的蛋白测定方法同 FXR 相同。

1.4 统计学处理

实验所有数据均重复三组,以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 SPSS13.0 统计软件进行分析处理,作用组与对照组比较采用 t 检验,均以 P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTT 检测结果

0 μ mol/L,0.1 μ mol/L,1 μ mol/L、3 μ mol/L、5 μ mol/L、7 μ mol/L、10 μ mol/L GW4064 不同作用组细胞活力分别为: 101.8 ± 2.50 , 96.6 ± 2.33 , 76.4 ± 3.81 , 61.7 ± 4.31 , 47.7 ± 5.21 , 5.3 ± 3.57 , 2.6 ± 2.11 。1 μ mol/L、5 μ mol/L、7 μ mol/L、10 μ mol/L GW4064 各作用组的人结肠 HT-29 细胞的生长抑制率与对照组(0 μ mol/L)相比,差异有统计学意义(P 值分别为 0.018,0.000,0.000,0.000;P<0.05),GW4064 激活 FXR 后对

HT-29 细胞的生长产生抑制作用,同时呈现剂量依赖关系,即随着浓度增加,GW4064 对 HT-29 细胞的生长抑制作用逐渐增强。72 小时结肠癌细胞半数抑制浓度(IC_{50})为 $4.83 \mu\text{mol/L}$ 。当 GW4064 作用浓度超过 $5 \mu\text{mol/L}$ 时,细胞活力急剧下降,细胞毒性增加(图 1)。

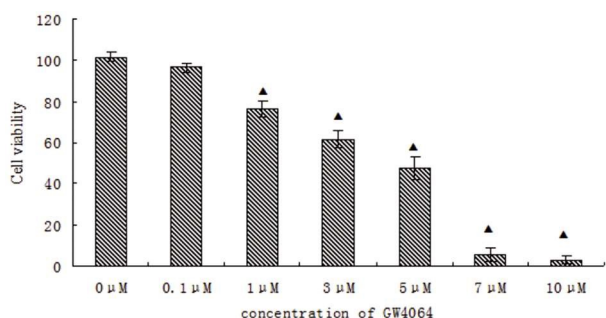


图 1 GW4064 对 HT-29 细胞的增殖抑制作用呈现剂量依赖关系 ($\Delta P < 0.05$)

Fig.1 GW4064 inhibited proliferation of HT-29 cells in a dose-dependent manner ($\Delta P < 0.05$)

2.2 transwell 小室检测结果

GW4064 可以抑制结肠癌细胞的侵袭转移,并呈浓度依赖关系。 $1, 5, 7 \mu\text{mol/L}$ GW4064 作用 HT-29 细胞 48 小时后,相对

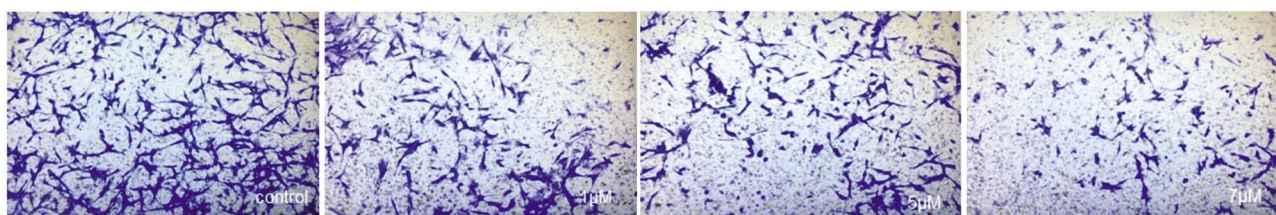


图 2 GW4064 对 HT-29 细胞的侵袭转移抑制作用呈现剂量依赖关系($SP \times 100$)

Fig.2 GW4064 inhibited the invasion and metastasis of HT-29 cells in a dose-dependent manner($SP \times 100$)

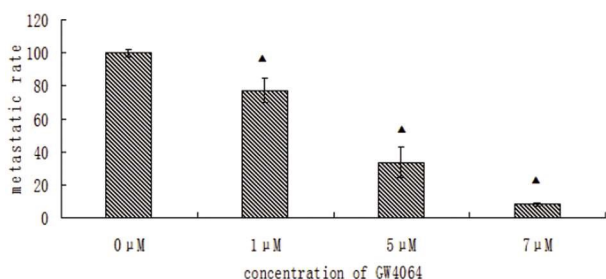


图 3 不同浓度结肠癌细胞转移率的变化趋势曲线。

与对照组相比 $1, 5, 7 \mu\text{mol/L}$ 作用组有差异,具有统计学意义 ($\Delta P < 0.05$)

Fig.3 The trend of metastatic rate of colon cancer cells at different concentrations. Compared with the control group, the $1, 5$ and $7 \mu\text{mol/L}$ treatment group had significant difference ($\Delta P < 0.05$).

3 讨论

尽管目前治疗结肠癌的方法很多,但仍有大量患者死于结肠癌转移。即使行结肠癌根治术治疗,依然有 $25\% \sim 40\%$ 的患者发生异时性肝转移,因此,进一步阐明结肠癌的转移机制,是一个需要迫切解决的问题。

法尼酯 X 受体是胆汁酸的核受体,可以反馈调节细胞内

细胞转移率 (%) 分别为: $100 \pm 2.35, 77.5 \pm 7.33, 33.5 \pm 9.41, 8.3 \pm 1.14$ 。与对照组比, $1, 5, 7 \mu\text{mol/L}$ 作用组差异具有统计学意义(P 值分别为 $0.007, 0.000, 0.000; P < 0.05$)。(图 2, 图 3)。

2.3 RT-PCR 结果显示

$0, 1, 5 \mu\text{mol/L}$ 不同浓度的 GW4064 作用于 HT-29 细胞 24 h 后,FXR mRNA 表达量 (%) 分别为: $13.16 \pm 2.32, 21.31 \pm 2.44, 28.90 \pm 2.81$, 表达剂量逐渐增加,呈现剂量依赖性关系,各作用组与对照组之间的差异具有统计学意义(P 值分别为 $0.037, 0.022, P < 0.05$),而 MMP-7mRNA 表达量 (%) 分别为: $74.33 \pm 5.98, 55.53 \pm 4.31, 9.16 \pm 2.15$, 表达剂量逐渐降低,呈现剂量依赖性关系,各作用组与对照组之间的差异具有统计学意义(P 值分别为 $0.043, 0.014, P < 0.05$)。(图 4, 图 5)。

2.4 western-blot 结果显示

$0, 1, 5 \mu\text{mol/L}$ 不同浓度的 GW4064 作用于 HT-29 细胞 24 h 后,FXR 蛋白表达量 (%) 分别为: $14.10 \pm 2.28, 44.32 \pm 6.37, 56.91 \pm 6.44$ 。表达逐渐增加,呈现剂量依赖性关系,各作用组与对照组之间的差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),而 MMP-7 蛋白表达量 (%) 分别为: $78.13 \pm 5.75, 30.51 \pm 4.11, 8.36 \pm 3.58$ 。表达逐渐降低,呈现剂量依赖性关系,各作用组与对照组之间的差异具有统计学意义($P < 0.05$)。(图 6, 图 7)。

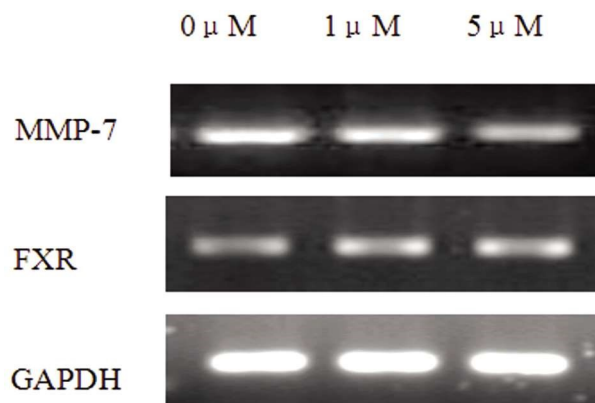


图 4 FXRmRNA 及 MMP-7mRNA 在不同作用组表达的变化

Fig.4 Changes of expression of FXRmRNA and MMP-7mRNA in different groups

胆汁酸水平,维持胆汁酸平衡,最初研究发现参与调节胆固醇、脂、糖的代谢以及胆汁酸的肠肝循环^[6]。近来研究发现激活 FXR 可调节多种炎症因子的表达,例如 COX-2、NF- κ B、IL-6、iNOS 等^[5,7,8],而且 FXR 在肿瘤的生长及凋亡中也起重要作用,Swales KE 等研究认为,在乳腺癌细胞中,激活 FXR 可以诱导乳腺癌细胞的凋亡^[9],Liu 等研究发现,激活 FXR 后可以通过抑

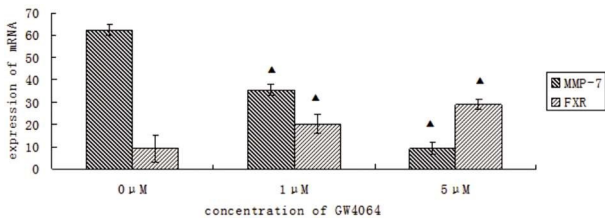


图 5 FXRmRNA 及 MMP-7mRNA 在不同作用组中表达的变化曲线, 三组间比较有差异, 具有统计学意义 (▲P<0.05)

Fig.5 The expression curves of FXRmRNA and MMP-7mRNA were significantly different between the three groups (▲P<0.05)

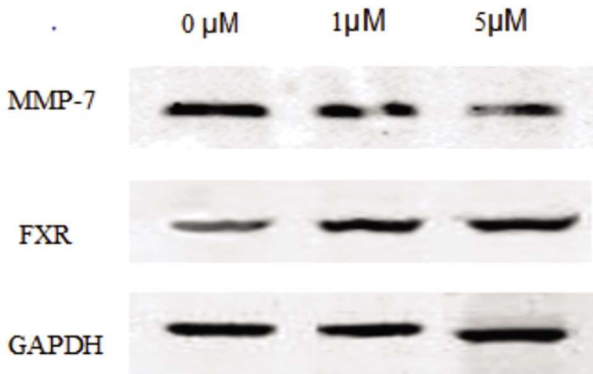


图 6 FXR 及 MMP-7 蛋白表达在不同作用组表达的变化

Fig.6 Expression of FXR and MMP-7 protein in different groups

制前列腺腺细胞的脂代谢,抑制肿瘤细胞的生长^[10]。因此FXR与肿瘤的生长密切相关。

近年来代谢及微环境与肿瘤的研究逐渐成为热点,而 FXR 与肠道的代谢及微环境均有关系^[11],因此 FXR 在结直肠癌中的作用也成为研究热点,在 FXR 基因敲除动物模型中,小鼠发生慢性结肠炎,小鼠模型的癌变率亦明显提高,而且激活 FXR 还可以降低慢性结肠炎小鼠模型肠道上皮的增生及炎症^[8,12],De Gottardi 等^[13]研究认为胆汁酸与结肠癌关系密切,并检测了与胆汁循环转移相关的因子的表达,结果发现,与正常结肠黏膜相比,结肠腺瘤与结肠癌患者中 FXRmRNA 的表达明显下降,分别为平均的 1/5 及 1/10,并且在低分化结肠癌细胞 SW480 及转移灶中提取的 SW680 细胞中检测,未发现 FXR 表达,而在分化较好的 Caco-2 及 HT-29 结肠癌细胞中,可以检测出 FXR 的表达,因此 FXR 表达的高低与结肠癌细胞的分期及分期有相关性。Lax S 等^[14]研究也进一步证实了这一观点,结肠癌的分期及预后与 FXR 的表达成反比关系。既往我们对比了人胆管癌及正常胆管组织中 FXR 表达,也得到相似的结果^[15]。Smith DL^[16]等对结肠腺瘤小鼠模型研究中发现,应用牛黄脱氧胆酸可以减少肠道腺瘤的形成,并且提高了 Shp、FGF15 及 IBABP 的表达,而这些蛋白表达都是由 FXR 调控的。综上所述,FXR 与结肠癌的预后关系密切,而且可以抑制结肠癌的生长。然而其与结肠癌转移的关系研究较少,尚无明确机制。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)是类多功能蛋白酶,不仅在伤口愈合、血管再生、胚胎发育等生理活动中发挥重要作用,而且在肿瘤生长及转移中起重要作用,MMP-7 是与肿瘤转移密切相关的蛋白酶,不仅可以促进促进细胞外基质的降解,而且可以促进癌细胞的转化及血管生成,

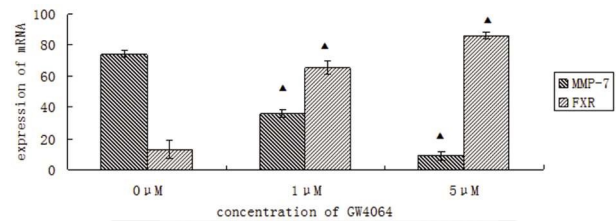


图 7 FXR 及 MMP-7 蛋白表达在不同作用组表达的变化,三组间比较有差异,具有统计学意义 (▲P<0.05)

Fig.7 The expression of protein of FXR and MMP-7was significantly different between the three groups(▲P<0.05)

尤其在肿瘤浸润及转移中起重要的作用^[17]。它通过蛋白水解解细胞外基质,破坏阻碍肿瘤转移的组织学屏障,促进癌细胞的侵袭和转移^[18],它与乳腺癌,胆囊癌,胃癌,肺癌,胰腺癌等肿瘤的转移复发都有密切关系^[19-24],Qasim BJ 等通过研究结肠癌患者术后肿瘤组织及无瘤切缘 MMP-7 的表达,发现 MMP-7 表达阳性率,结肠癌(45.45%)明显高于正常组织(10%)^[25]。Sun DW 等总结了 2985 例的结肠癌患者肿瘤组织中 MMP-7 的表达的数据,发现高表达患者生存时间短和复发率高^[26]。Klupp F 等通过研究结肠癌患者血清中 MMP-7 的表达与预后的关系发现,MMP-7 表达高的患者,术后容易发生复发转移^[27]。因此我们同时检测 MMP-7 的表达变化来反应 FXR 对结肠癌细胞的生物学行为的影响。

我们的研究结果发现 GW4064 作用 HT-29 细胞后,结肠癌细胞转移减少,MMP-7 表达显著受到抑制,并呈现剂量依赖性。而 GW4064 是 FXR 的特异性激动剂,而且 GW4064 作用后 FXR 的表达增加,由此我们认为,GW4064 通过激活 FXR,可以抑制结肠癌细胞的转移,激活的 FXR 抑制 MMP-7 的表达可能是其作用机制之一。有研究证明 GW4064 通过激活 FXR 作用于结肠癌细胞,可以激活 FXR 与降低 EGFR 及 ERK 蛋白的磷酸化,从而抑制结肠癌细胞的生长^[28],但其并没有研究 FXR 与结肠癌细胞转移的关系。流行病学显示高脂饮食可促进结肠癌发病增加,而前者可以刺激肝脏合成分泌胆盐增多,使结肠内胆汁酸浓度增加,肠道内胆汁酸平衡被破坏。而 FXR 可以平衡结肠细胞胆汁酸水平,激活 FXR 可以促进结肠对胆汁酸的重吸收,当结肠细胞胆汁酸水平增高后,后者抑制了结肠细胞 FXR 的表达^[29]。从而促进了结肠癌细胞的生长、浸润及转移^[30]。因此我们认为 FXR 可能成为治疗结肠癌转移的一个重要靶点。

本研究初步证明了激活 FXR 可以抑制结肠癌细胞的浸润转移,其机制之一可能是通过抑制 MMP-7 的表达,从而抑制结肠癌细胞的转移,提示我们对于结肠癌转移的患者,激活 FXR 可能也是治疗方法之一。

参考文献(References)

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, et al. Colorectal cancer statistics, 2017[J]. CA Cancer J Clin, 2017, 67(3): 177-193
- [2] Rizopoulos D, Verhoef C, Steyerberg EW, et al. Hydroxylated collagen peptide in urine as biomarker for detecting colorectal liver metastases [J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(2): 321-330
- [3] Ocvirk S, O'Keefe SJ. Influence of Bile Acids on Colorectal Cancer Risk: Potential Mechanisms Mediated by Diet - Gut Microbiota Inter-

- actions[J]. *Curr Nutr Rep*, 2017, 6(4): 315-322
- [4] Di Ciaula A, Wang DQ, Molina-Molina E, et al. Bile Acids and Cancer: Direct and Environmental-Dependent Effects. *Ann Hepatol*, 2017, 16(Suppl. 1:s3-105.): s87-s105
- [5] Koutsounas I, Giaginis C, Theocharis S. Farnesoid X receptor (FXR) from normal to malignant state [J]. *Histol Histopathol*, 2012, 27(7): 835-853
- [6] Cariello M, Piccinin E, Garcia-Irigoyen O, et al. Nuclear receptor FXR, bile acids and liver damage: Introducing the progressive familial intrahepatic cholestasis with FXR mutations [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2018, 1864(4 Pt B): 1308-1318
- [7] Wang YD, Chen WD, Wang M, et al. Farnesoid X receptor antagonizes nuclear factor kappaB in hepatic inflammatory response [J]. *Hepatology*, 2008, 48: 1632-1643
- [8] Modica S, Murzilli S, Salvatore L, et al. Nuclear bile acid receptor FXR protects against intestinal tumorigenesis [J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 9589-9594
- [9] Swales KE, Korbonits M, Walsh DT, et al. The farnesoid X receptor is expressed in breast cancer and regulates apoptosis and aromatase expression[J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 10120-10126
- [10] Liu N, Zhao J, Wang J, et al. Farnesoid X receptor ligand CDCA suppresses human prostate cancer cells growth by inhibiting lipid metabolism via targeting sterol response element binding protein 1[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(11): 5118-5124
- [11] Gadaleta RM, Cariello M, Sabbà C, et al. Tissue-specific actions of FXR in metabolism and cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1851(1): 30-39
- [12] Koutsounas I, Giaginis C, Theocharis S. Farnesoid X Receptor (FXR) from normal to malignant state [J]. *Histol Histopathol*, 2012, 27(7): 835-853
- [13] De Gottardi A, Touri F, Maurer CA, et al. The bile acid nuclear receptor FXR and the bile acid binding protein IBABP are differently expressed in colon cancer[J]. *Dig Dis Sci*, 2004, 49: 982-989
- [14] Lax S, Schauer G, Prein K, et al. Expression of the nuclear bile acid receptor/farnesoid X receptor is reduced in human colon carcinoma compared to nonneoplastic mucosa independent from site and may be associated with adverse prognosis [J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(10): 2232-2239
- [15] 张超峰,王坚.法尼酯X受体在胆管癌中表达特点[J].*外科理论与实践*, 2009, 14: 171-173
Zhang Chao-feng, Wang Jian. Characteristics of farnesoid X receptor expression in cholangiocarcinoma [J]. *Journal of Surgery Concepts & Practice*, 2009, 14: 171-173
- [16] Smith DL, Keshavan P, Avissar U, et al. Sodium taurocholate inhibits intestinal adenoma formation in APCMin/+ mice, potentially through activation of the farnesoid X receptor[J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(6): 1100-1109
- [17] Banday MZ, Sameer AS, Mir AH, et al. Matrix metalloproteinase (MMP) -2, -7 and -9 promoter polymorphisms in colorectal cancer in ethnic Kashmiri population - A case-control study and a mini review [J]. *Gene*, 2016, 589(1): 81-89
- [18] Manders DB, Kishore HA, Gazdar AF, et al. Dysregulation of fibulin-5 and matrix metalloproteases in epithelial ovarian cancer[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(18): 14251-14267
- [19] Ren F, Tang R, Zhang X, et al. Overexpression of MMP Family Members Functions as Prognostic Biomarker for Breast Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135544
- [20] Zhu XM, Sun WF. Association between matrix metalloproteinases polymorphisms and ovarian cancer risk: A meta-analysis and systematic review[J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0185456
- [21] Hu C, Wang J, Xu Y, et al. Current evidence on the relationship between five polymorphisms in the matrix metalloproteinases (MMP) gene and lung cancer risk: a meta-analysis [J]. *Gene*, 2013, 517(1): 65-71
- [22] Li X, Qu L, Zhong Y, et al. Association between promoters polymorphisms of matrix metalloproteinases and risk of digestive cancers: a meta-analysis[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2013, 139(9): 1433-1447
- [23] Le N, Sund M, Vinci A. Prognostic and predictive markers in pancreatic adenocarcinoma[J]. *Dig Liver Dis*, 2016, 48(3): 223-230
- [24] Chang WJ, Du Y, Zhao X, et al. Inflammation-related factors predicting prognosis of gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(16): 4586-4596
- [25] Qasim BJ, Ali HH, Hussein AG. Immunohistochemical expression of matrix metalloproteinase-7 in human colorectal adenomas using specified automated cellular image analysis system: a clinicopathological study[J]. *Saudi J Gastroenterol*, 2013, 19(1): 23-27
- [26] Sun DW, Zhang YY, Qi Y, et al. Prognostic significance of MMP-7 expression in colorectal cancer: a meta-analysis[J]. *Cancer Epidemiol*, 2015, 39(2): 135-142
- [27] Klupp F, Neumann L, Kahlert C, et al. Serum MMP7, MMP10 and MMP12 level as negative prognostic markers in colon cancer patients [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16: 494
- [28] Peng Z, Raufman JP, Xie G. Src-mediated cross-talk between farnesoid X and epidermal growth factor receptors inhibits human intestinal cell proliferation and tumorigenesis[J]. *PLoS One*, 2012, e48461
- [29] Massafra V, van Mil SWC. Farnesoid X receptor: A "homeostat" for hepatic nutrient metabolism [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2018, 1864(1): 45-59
- [30] Zimmer A, Gespach C. Bile acids and derivatives, their nuclear receptors FXR, PXR and ligands: role in health and disease and their therapeutic potential [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2008, 8(5): 540-563