

CXC 趋化因子受体 4 通过 S 期激酶相关蛋白 2 调控乳腺癌细胞周期的机制

王海凤¹, 陈天天¹, 王月月¹, 李 钰¹, 张凌宇¹, 丁勇兴², 陈素莲³, 王文锐⁴, 杨清玲³, 陈昌杰³

1. 蚌埠医学院临床检验诊断学实验中心, 安徽 蚌埠 233000

2. 蚌埠市第三人民医院普外肿瘤科, 安徽 蚌埠 233000

3. 蚌埠医学院生物化学与分子生物学教研室, 安徽 蚌埠 233000

4. 蚌埠医学院生物技术教研室, 安徽 蚌埠 233000

[摘要] 目的:探讨 CXC 趋化因子受体 4(CXCR4)通过 PI3K/Akt 和 ERK 信号通路调控 S 期激酶相关蛋白 2(Skp2)的表达,进而影响乳腺癌细胞周期的机制。

方法:利用干扰及过表达技术下调或上调 CXCR4 的表达后,通过实时定量 PCR 和蛋白质印迹法检测 CXCR4 与 Skp2 调控的关联性;蛋白质印迹法检测 CXCR4 干扰及过表达后对信号蛋白及 Skp2 下游相关基因表达的影响;通过碘化丙啶(PI)染色法检测 CXCR4、PI3K/Akt 通路抑制剂 LY294002 及 ERK 通路抑制剂 U0126 对乳腺癌细胞周期的影响。结果:干扰 CXCR4 后,Skp2 表达下调;过表达 CXCR4 后,Skp2 表达上调。CXCR4 可通过对信号蛋白的调控影响 Skp2 及 Skp2 下游相关基因的表达。干扰 CXCR4 后,G₀/G₁ 期细胞比例增加,S 期细胞比例相应减少,CXCR4 与 LY294002 及 U0126 联合作用对细胞周期的阻断更加明显。结论: CXCR4 能够通过信号蛋白 PI3K/Akt 及 ERK 的调控,影响 Skp2 及 Skp2 下游相关基因的表达,阻断 CXCR4/Akt/Skp2 或 CXCR4/ERK/Skp2 信号通路后可有效诱导细胞周期阻滞,从而抑制乳腺癌细胞的增殖。



[关键词] 乳腺肿瘤/病理生理学;受体,CXCR4/生物合成;受体,CXCR4/遗传学;S 期激酶相关蛋白质类/代谢;细胞系,肿瘤/代谢;细胞增殖;细胞周期

[中图分类号] R737.9 **[文献标志码]** A

CXC chemokine receptor 4 regulates breast cancer cell cycle through S phase kinase associated protein 2

收稿日期:2017-02-16 接受日期:2017-04-05

基金项目:安徽省教育厅自然科学重大项目(KJ2015ZD29,KJ2016SD37);安徽省自然科学基金(1508085MH159);安徽省高校学科(专业)拔尖人才学术资助重点项目(gxbjZD2016069);安徽省蚌埠市科技计划项目(20150309);蚌埠医学院研究生创新项目(Bycexz1607)

第一作者:王海凤(1992—),女,硕士研究生,主要从事乳腺癌发生发展及其机制研究;E-mail: 350103266@qq.com; <http://orcid.org/0000-0003-3466-0384>

通讯作者:陈昌杰(1968—),男,博士,教授,硕士生导师,主要从事肿瘤分子生物学研究;E-mail: tochenchangjie@163.com; <http://orcid.org/0000-0001-9646-320X>

WANG Haifeng¹, CHEN Tiantian¹, WANG Yueyue¹, LI Yu¹, ZHANG Lingyu¹, DING Yongxing², CHEN Sulian³, WANG Wenrui⁴, YANG Qingling³, CHEN Changjie³
(1. Clinical Testing and Diagnosis Center, Bengbu Medical College, Bengbu 233000, China; 2. Department of Surgical Oncology, Bengbu Third People's Hospital, Bengbu 233000, China; 3. Department of Biochemistry & Molecular Biology, Bengbu Medical College, Bengbu 233000, China; 4. Department of Biotechnology, Bengbu Medical College, Bengbu 233000, China)

Corresponding author: CHEN Changjie, E-mail: tochenchangjie@163.com, http://orcid.org/0000-0001-9646-320X

[Abstract] Objective: To investigate the effect of CXC chemokine receptor 4 (CXCR4) on cell cycle of breast cancer and its molecular mechanisms. **Methods:** The expression of CXCR4 and S phase kinase associated protein 2 (Skp2) was detected by real-time fluorescence quantitative PCR (fqRT-PCR) and Western blot in breast cancer cells. The expression of signal proteins and the downstream genes of Skp2 was detected by Western blot. The effect of CXCR4, PI3K/Akt pathway inhibitor LY294002 and ERK pathway inhibitor U0126 on cell cycle of breast cancer was detected by propidium iodide staining. **Results:** Skp2 was significantly down-regulated in CXCR4-downregulated cells and up-regulated in CXCR4-upregulated cells. CXCR4 also regulated the expression of Skp2 and other downstream genes by signaling protein. The proportion of cells in G₀/G₁ phase increased and that in S phase declined in CXCR4-downregulated cell, and the effect was more significant when combined with the use of LY294002 or U0126. **Conclusion:** CXCR4 can affect cell cycle and inhibit the proliferation of breast cancer cells by regulating Skp2 gene expression through PI3K/Akt and ERK signaling pathway.

[Key words] Breast neoplasms/physiopathology; Receptors, CXCR4/biosynthesis; Receptors, CXCR4/genetics; S-phase kinase-associated proteins/metabolism; Cell line, tumor/metabolism; Cell proliferation; Cell cycle

[J Zhejiang Univ (Medical Sci) , 2017 ,46(4) :357-363.]

乳腺癌是当今中国女性最常见的癌症。了解乳腺癌发生、发展和转移的分子生物学机制对于乳腺癌治疗策略研究非常关键。研究表明, CXC趋化因子受体 4 (CXC chemokine receptor 4, CXCR4) 在包括乳腺癌在内的多种肿瘤细胞中表达上调^[1-4], 其表达异常与乳腺癌的转移也密切相关^[5]。大量研究显示: S 期激酶相关蛋白 2 (S-phase kinase-associated protein 2, Skp2) 在约 50% 的乳腺癌患者细胞中高表达, 且其在细胞周期的进展中发挥重要作用, 能特异性地识别磷酸化底物并介导其泛素化降解^[6-7]。CXCR4 介导的乳腺癌发生发展是否与 Skp2 介导的细胞周期调控有关, 尚未见文献报道。本研究旨在研究 CXCR4 对 Skp2 表达的调控作用及与乳腺癌细胞周期的影

响, 完善 CXCR4 促进乳腺癌进展的机制, 为乳腺癌的预防及临床治疗提供新的靶点和思路。

1 材料与方法

1.1 材料

人乳腺癌细胞株 SKBR-3 和 MDA-MB-231 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心; ABI 7500 Fast 实时荧光定量 PCR 仪购自美国应用生物系统公司; FBS 购自美国 Hyclone 公司; DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司; TRIzol 试剂和 Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen 公司; 逆转录试剂盒购自美国 Fermentas 公司; 荧光定量 PCR 试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司; 兔抗人 CXCR4、Skp2、Akt、ERK 抗体购自英国

Abcam 公司; P21、P27、FOXO1 抗体及 LY294002 (工作浓度 25 $\mu\text{mol/L}$) 购自美国 Cell Signaling Technology 公司; c-Myc、CyclinD1、磷酸化 Akt、磷酸化 ERK 抗体购自美国 Proteintech 公司; β -actin 抗体购自美国 Santa Cruz 公司; U0126 (工作浓度 10 $\mu\text{mol/L}$) 购自上海碧云天生物技术有限公司; 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记山羊抗兔 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜、电化学发光 (ECL) 试剂盒购自美国 Millipore 公司。所有引物合成和 DNA 序列测定由南京金斯瑞生物科技有限公司完成; 过表达 CXCR4 的 MDA-MB-231 细胞株 (过表达 CXCR4 细胞) 和干扰 CXCR4 的 SKBR-3 细胞株 (干扰 CXCR4 细胞) 由本项目组构建并筛选保存^[8]。

1.2 细胞培养

将人乳腺癌细胞株 SKBR-3 和 MDA-MB-231 接种于含 10% FBS 的新鲜 DMEM 培养液中, 置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% 二氧化碳、饱和湿度培养箱中培养, 2 ~ 3 d 传代一次, 所有实验均采用对数生长期细胞。

1.3 实时定量 PCR 检测 Skp2 及其下游相关基因的表达

TRIzol 法提取总 RNA, 根据逆转录试剂说明书进行逆转录反应, 按照荧光定量试剂盒说明书用实时定量 PCR 仪进行实时定量 PCR 检测。以 GAPDH 为内参, 所用的引物序列见表 1。相对表达量计算公式为 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$, 相关基因表达的 $\Delta\Delta\text{CT} = \text{CT 值 (实验组目的基因 - 实验组 GAPDH)} - \text{CT 值 (对照组目的基因 - 对照组 GAPDH)}$; 结果数据利用 GraphPad Prism 5 作图及统计学分析。

1.4 蛋白质印迹法检测 Skp2 及其下游相关蛋白的表达

胰蛋白酶消化对数生长期细胞, 加入蛋白裂解液 (RIPA: PMSF = 99: 1), 充分吹打混匀, 冰上

放置 30 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心取上清液; 采用蛋白质二喹啉甲酸法 (BCA 法) 进行蛋白定量分析; 10% SDS-PAGE, 蛋白样品上样量为 25 μg , 蛋白标记物上样量为 5 μL ; 电泳结束后转至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 3 h, 孵育一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜 (Skp2、P21、P27、FOXO1、c-Myc、CyclinD1、磷酸化 Akt、磷酸化 ERK 工作浓度为 1: 1000, Akt、ERK 工作浓度为 1: 2000, β -actin 工作浓度为 1: 3000), TBST 缓冲液洗膜三次, 每次 10 min; HRP 标记的相应二抗 (羊抗兔/鼠 IgG 1: 5000) 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 h 后, TBST 缓冲液洗膜三次, 每次 10 min; PVDF 膜化学发光显影, BIO-RAD 成像系统拍照, AlphaVIEW SA 凝胶成像分析软件灰度扫描, 定量分析各蛋白含量。

1.5 碘化丙啶 (PI) 染色检测细胞周期分布

取对数生长期 SKBR-3 和干扰 CXCR4 细胞用胰蛋白酶消化, 离心收集细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷 PBS 洗涤细胞两次, 弃上清液; 加入 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 70% 乙醇重悬细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定过夜; 离心收集固定完全的细胞, 弃去 70% 乙醇; 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 PBS 洗涤细胞两次, 弃上清液后各组加入 500 μL 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 PI 染色液 (5 mg PI + 2 mg RNaseA + 0.1 mL 1.0% Triton X-100 + 3.7 mg EDTA + 10 mL PBS, 棕色瓶 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 工作浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$) 重悬细胞, 避光染色 30 min; 流式细胞仪检测, 结果采用 ModFit LT 3.0 软件进行分析。每组实验重复三次。

1.6 统计学方法

所有数据采用 SPSS 13.0 统计软件处理, 正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 均数间差异比较用 t 检验, 多组样本均数之间差异采用方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

表 1 实时定量 PCR 引物序列

Table 1 The sequences of real time quantitative RT-PCR primers

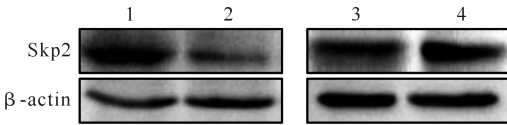
| 引物名称 | 上游 (5'→3') | 下游 (5'→3') |
|----------|---------------------------|------------------------------|
| Skp2 | TGCTAAGCAGCTGTTCAGCA | AAGATTCAGCTGGGTGATGG |
| P21 | GCGGAACAAGGAGTCAGACAT | CCCAATACTCCAAGTACACTAAGCA |
| P27 | TGCAACCGACGATTCTTCTACTCAA | CAAGCAGTGATGTATCTGATAAACAAGG |
| FOXO1 | TGTCCCTACACAGCAAGTTCA | CACCCTCTGGATTGAGCATC |
| c-Myc | GCGACTCTGAGGAGGAACA | TGAGGACCAGTGGGCTGT |
| CyclinD1 | GTGGCCTCTAAGATGAAGGAGA | GGAAGTGTTCATGAAATCCTG |
| GAPDH | CAGCCTCAAGATCATCAGCA | TGTGGTCATGAGTCCTTCCA |

2 结果

2.1 CXCR4 调控乳腺癌细胞 Skp2 的表达

检测过表达和干扰 CXCR4 细胞中 Skp2 的 mRNA 及蛋白表达,结果显示,相对于 SKBR-3 和 MDA-MB-231 细胞,干扰 CXCR4 的细胞中 Skp2 的 mRNA 表达明显下降(分别为 1.00 ± 0.15 和 $0.30 \pm 0.06, P < 0.01$),而过表达 CXCR4 的细胞中 Skp2 的 mRNA 表达水平明显升高(分别为 1.00 ± 0.14 和 $1.54 \pm 0.15, P < 0.05$);蛋白表达变化与 mRNA 表达一致(图 1)。提示 CXCR4 信号通路可能调控 Skp2 的表达。

的效果更加显著(图 3)。提示 CXCR4 可能通过 Akt、ERK 信号通路调控 Skp2 的表达。



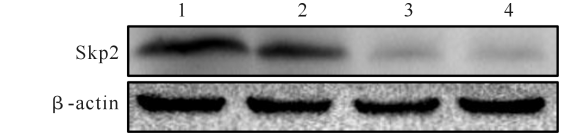
1:SKBR-3,2:干扰 CXCR4 细胞,3:MDA-MB-231,4:过表达 CXCR4 细胞。

图 1 干扰及过表达 CXCR4 后乳腺癌细胞 Skp2 蛋白表达的电泳图

Figure 1 Electrophorogram of Skp2 expression changes in CXCR4-downregulated and upregulated strains

2.2 CXCR4 对乳腺癌细胞 Akt、ERK 信号通路活性的影响

干扰 CXCR4 表达后, Akt、ERK 的磷酸化水平明显降低;而过表达 CXCR4 后, Akt、ERK 的磷酸化水平明显升高(图 2)。在 SKBR-3 细胞中干扰 CXCR4 与 PI3K/Akt 通路抑制剂 LY294002 和 ERK 通路抑制剂 U0126 联合作用后,降低 Skp2



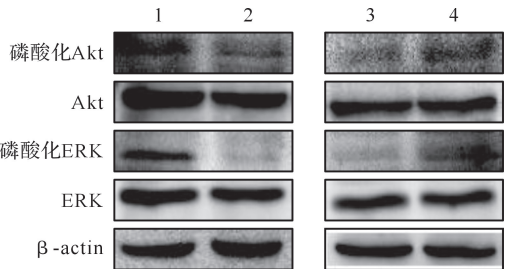
1:SKBR-3,2:干扰 CXCR4 细胞,3:干扰 CXCR4 细胞 + LY294002,4:干扰 CXCR4 细胞 + U0126。

图 3 干扰 CXCR4 与 LY294002、U0126 联合作用后乳腺癌细胞 Skp2 的表达变化

Figure 3 Effects of CXCR4 plus LY294002 or U0126 on the expression of Skp2

2.3 CXCR4 对乳腺癌细胞 Skp2 下游相关基因表达的调控作用

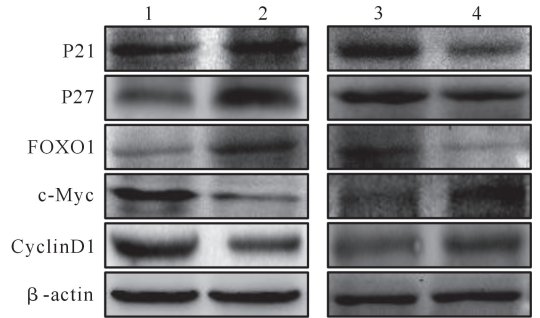
干扰 CXCR4 表达后, P21、P27、FOXO1 的 mRNA 及蛋白水平较空白对照组明显升高, c-Myc、CyclinD1 的 mRNA 及蛋白水平明显下降;过表达 CXCR4 后,结果与上述相反,见图 4、5。提示 CXCR4 可能通过对 Skp2 的调控影响其下游相关基因的表达。



1:SKBR-3,2:干扰 CXCR4 细胞,3:MDA-MB-231,4:过表达 CXCR4 细胞。

图 2 干扰及过表达 CXCR4 后乳腺癌细胞相关信号蛋白的表达变化

Figure 2 Electrophorogram of the expression of signaling proteins in CXCR4-downregulated and upregulated strains



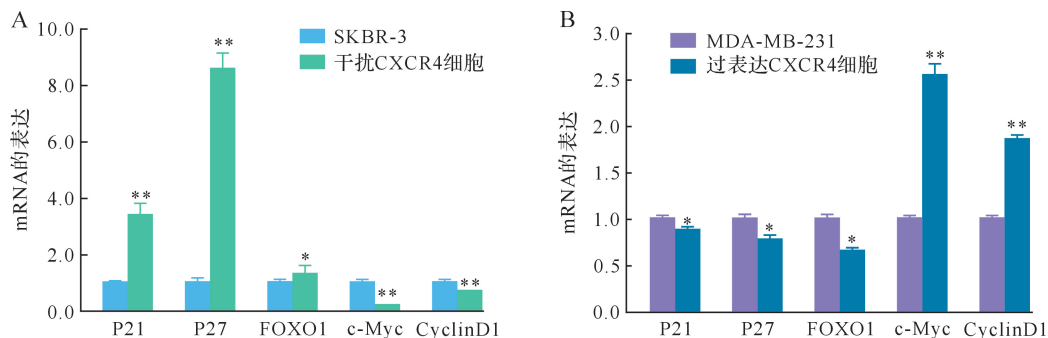
1:SKBR-3,2:干扰 CXCR4 细胞,3:MDA-MB-231,4:过表达 CXCR4 细胞。

图 4 干扰及过表达 CXCR4 后乳腺癌细胞 Skp2 下游相关基因表达的电泳图

Figure 4 Electrophorogram of the expression of Skp2 downstream related genes in CXCR4-downregulated and upregulated strains

2.4 CXCR4 对乳腺癌细胞周期的影响

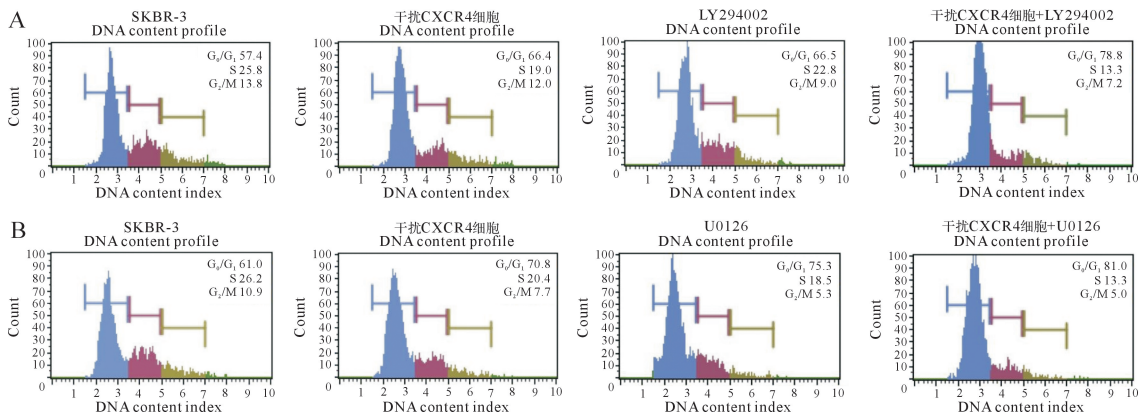
相对于空白对照组,干扰 CXCR4 后 SKBR-3 细胞 G₀/G₁期细胞比例增加, S 期、G₂/M 期细胞比例下降;与 LY294002 及 U0126 联合作用后, G₀/G₁期阻滞更加明显(图 6、7)。提示 CXCR4 可通过 PI3K/Akt、ERK 调控 Skp2,从而对细胞周期产生影响。



A: 干扰 CXCR4 后 Skp2 下游基因 mRNA 表达变化; B: 过表达 CXCR4 后 Skp2 下游基因 mRNA 表达变化. 与空白对照组 (SKBR-3 和 MDA-MB-231) 比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

图 5 干扰及过表达 CXCR4 后细胞 Skp2 下游相关基因 mRNA 表达水平的改变

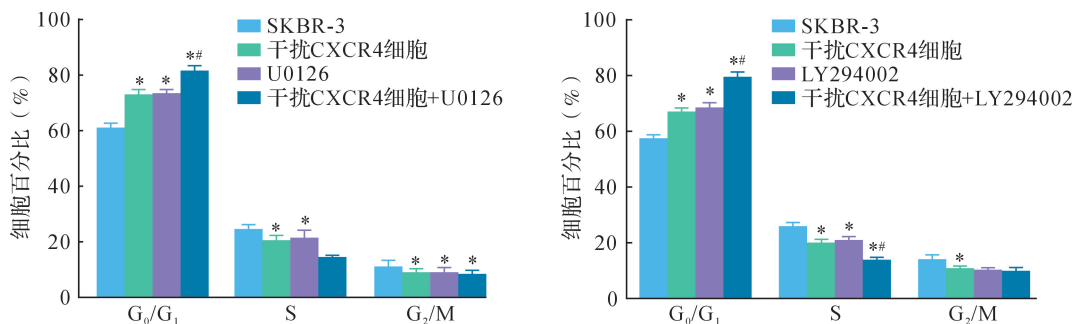
Figure 5 mRNA expression of Skp2 downstream related genes in CXCR4-downregulated and upregulated strains



A: 干扰 CXCR4 细胞及 LY294002 对细胞周期的影响; B: 干扰 CXCR4 细胞及 U0126 对细胞周期的影响.

图 6 流式细胞术检测 CXCR4 及 LY294002、U0126 作用后 SKBR-3 细胞周期分布

Figure 6 Cell cycles of SKBR-3 with the influence of CXCR4, LY294002 and U0126



与 SKBR-3 比较, * $P < 0.05$; 与干扰 CXCR4 细胞比较, # $P < 0.05$.

图 7 CXCR4 及 LY294002、U0126 作用后 SKBR-3 细胞周期分布的变化

Figure 7 Effect of CXCR4, LY294002 and U0126 on SKBR-3 cell cycle

3 讨论

CXCR4 为七次跨膜的 G 蛋白偶联受体,通过

与 CXCL12(SDF-1 α) 结合,激活细胞内的一系列信号转导通路及效应分子,从而诱发肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移及血管形成,在肿瘤的进展中发

挥重要作用^[9-11]。我们前期研究证实了 CXCR4 表达是乳腺癌细胞侵袭和转移的关键调控因子^[8]。下调 CXCR4 的表达可诱导细胞周期阻滞, G₀/G₁ 期比例增加, S 期、G₂/M 期比例相应下降, 从而抑制细胞的增殖^[12-13]。我们前期也证实了 CXCR4 抑制性多肽可通过靶向阻断 CXCR4 信号, 阻滞 SDF-1 α 诱导的细胞周期^[14], 表明 SDF-1 α /CXCR4 生物轴可通过 Akt 和 ERK 信号通路调控乳腺癌的细胞周期。

Skp2 是由 Demetrick 等^[15]发现的一种连接 S 期激酶 Cdk2/CyclinA 的蛋白, 是细胞周期的一个重要 F-box 蛋白^[16]。Skp2 是泛素连接酶 E3 的重要组成部分^[17], 与 SCF (Skp1-cullin-F-box 蛋白) 组成复合物能够特异性地识别多种磷酸化底物并介导其泛素化降解, 从而正向调控 G₁/S 期。目前已经发现 Skp2 与细胞周期相关的底物有 CyclinD1、c-Myc、P21、P27、P57 等^[18-20]。Skp2 过表达于多种肿瘤细胞, 发挥癌基因的作用^[21-22], 且与肿瘤的分化程度、恶性进程和临床预后密切相关^[23-24]。前期研究发现, 在乳腺癌耐药细胞中干扰 Skp2 的表达, 可以有效地抑制细胞的迁移和侵袭, 并逆转上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 表型^[25], 且可能与 CXCR4 的表达呈正相关^[26]。本研究发现干扰 CXCR4 表达后, Skp2 的表达下调, 细胞周期阻滞在 G₀/G₁ 期, 其下游周期相关蛋白 P21、P27、FOXO1 表达上调, 而 CyclinD1、c-Myc 表达下调; 过表达 CXCR4 出现相反的效应, 表明 CXCR4 可以通过调控 Skp2 进而对细胞周期进行调控。

研究表明, PI3K/Akt 通路可调控 Skp2 的表达, Akt 可直接磷酸化 Skp2 并与之相互作用, 促进 SCF 复合体形成并增强 E3 连接酶活性^[27]。在乳腺癌细胞系中 Skp2 表达与 Akt 活性呈正相关, 抑制 Akt 活性可使 Skp2 表达下调, 表明其可能是导致乳腺癌中 Skp2 上调的主要因素^[28]。我们前期研究发现, CXCR4 抑制剂可通过抑制 Akt 及 ERK1/2 信号通路发挥抗乳腺癌细胞的增殖并诱发凋亡的作用^[29], 并可调控 PDGFR α 活性, 发挥逆转 EMT 的作用^[8], 提示 CXCR4 表达可能通过 PI3K/Akt 和 ERK 信号通路调控 Skp2 的表达。为了进一步阐明 Akt 和 ERK 信号通路在 CXCR4-Skp2 调控中的作用, 本研究利用 LY294002 及 U0126 处理后分析其对细胞周期的影响。研究发

现, 干扰 CXCR4 的表达后, Akt 和 ERK 的磷酸化水平下调, Skp2 表达受到抑制, 细胞周期阻滞显著, 且与 LY294002 及 U0126 具有联合效应, 表明乳腺癌细胞中 CXCR4 可能通过 PI3K/Akt 信号途径调控 Skp2 表达, 从而发挥对细胞周期的调控作用。

综上所述, CXCR4/PI3K/Akt/Skp2 和 CXCR4/ERK/Skp2 信号通路在乳腺癌细胞周期活性调控中发挥重要的作用, 靶向膜表面趋化因子受体 CXCR4 可阻滞细胞周期, 从而延缓细胞进入增殖周期, 减少细胞分裂增殖。本研究结果为针对 CXCR4 靶点的乳腺癌治疗提供了理论基础。

参考文献

- [1] CONLEY-LACOMB M K, SALIGANAN A, KANDAGATLA P, et al. PTEN loss mediated Akt activation promotes prostate tumor growth and metastasis via CXCL12/CXCR4 signaling [J]. *Mol Cancer*, 2013, 12(1):85.
- [2] FENG B, LI K, ZHONG H, et al. RhoE promotes metastasis in gastric cancer through a mechanism dependent on enhanced expression of CXCR4 [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(11):e81709.
- [3] LIAO Y X, ZHOU C H, ZENG H, et al. The role of the CXCL12-CXCR4/CXCR7 axis in the progression and metastasis of bone sarcomas (review) [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(6):1239-1246.
- [4] YANG P, LIANG S X, HUANG W H, et al. Aberrant expression of CXCR4 significantly contributes to metastasis and predicts poor clinical outcome in breast cancer [J]. *Curr Mol Med*, 2014, 14(1):174-184.
- [5] YANG Q, ZHANG F, DING Y, et al. Antitumour activity of the recombination polypeptide GST-NT21MP is mediated by inhibition of CXCR4 pathway in breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(5):1288-1297.
- [6] SONODA H, INOUE H, OGAWA K, et al. Significance of skp2 expression in primary breast cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(4):1215-1220.
- [7] LU Z, HUNTER T. Ubiquitylation and proteasomal degradation of the p21^{Cip1}, p27^{Kip1} and p57^{Kip2} CDK inhibitors [J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(12):2342-2352.
- [8] YANG QL, ZHANG LY, WANG HF, et al. The N-terminal polypeptide derived from viral macrophage inflammatory protein II reverses breast cancer epithelial-omesenchymal transition via a PDGFR α -dependent mechanism [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(23):37448-37463.
- [9] CHATTERJEE S, BEHNAM AZAD B, NIMMAGADDA S. The intricate role of CXCR4 in

- cancer[J]. **Adv Cancer Res**,2014,124:31-82.
- [10] BAJETTO A, BARBIERI F, PATTAROZZI A, et al. CXCR4 and SDF1 expression in human meningiomas: a proliferative role in tumoral meningothelial cells *in vitro*[J]. **Neuro Oncol**,2007,9(1):3-11.
- [11] ZHENG Q, SHUAI X, YE Y, et al. The role of polymorphisms of stromal derived factor-1 and CXC receptor 4 in acute myeloid leukemia and leukemia cell dissemination[J]. **Gene**,2016,588(2):103-108.
- [12] 袁宏,冯虎,家秀秀,等. CXCR4 shRNA 对 U87 胶质瘤细胞周期和凋亡的影响[J]. **中国热带医学**,2015,15(1):25-27.
- YUAN Hong, FENG Hu, JIA Xiuxiu, et al. Effects of CXCR4 shRNA on cell cycle and apoptosis of U87 glioma [J]. **China Tropical Medicine**, 2015, 15 (1):25-27. (in Chinese)
- [13] 王艳,刘晓日,谭艳芳,等. RNA 干扰沉默 CXCR4 基因对 Jurkat 细胞周期和凋亡的影响[J]. **中国实验血液学杂志**,2010,18(3):625-628.
- WANG Yan, LIU Xiaori, TAN Yanfang, et al. Effects of CXCR4 silence induced by RNA interference on cell cycle distribution and apoptosis of jurkat cells [J]. **Journal of Experimental Hematology**,2010,18(3):625-628. (in Chinese)
- [14] YANG Q, WU H, WANG H, et al. N-terminal polypeptide derived from vMIP-II exerts its antitumor activity by inhibiting the CXCR4 pathway in human glioma[J]. **Int J Oncol**,2017,50(4):1160-1174.
- [15] DEMETRICK D J, ZHANG H, BEACH D H. Chromosomal mapping of the genes for the human CDK2/cyclin A-associated proteins p19 (SKP1A and SKP1B) and p45 (SKP2) [J]. **Cytogenet Cell Genet**,1996,73(1-2):104-107.
- [16] ZHANG H, KOBAYASHI R, GALAKTIONOV K, et al. p19Skp1 and p45Skp2 are essential elements of the cyclin A-CDK2 S phase kinase[J]. **Cell**,1995,82(6):915-925.
- [17] CHAN C H, MORROW J K, ZHANG S, et al. Skp2: a dream target in the coming age of cancer therapy[J]. **Cell Cycle**,2014,13(5):679-680.
- [18] PATERAS I S, APOSTOLOPOULOU K, KOUTSAMI M, et al. Downregulation of the KIP family members p27(KIP1) and p57(KIP2) by SKP2 and the role of methylation in p57(KIP2) inactivation in non-small cell lung cancer[J]. **Int J Cancer**,2006,119(11):2546-2556.
- [19] FRESCAS M, PAGANO M. Deregulated proteolysis by the F-box proteins SKP2 and beta-TrCP: tipping the scales of cancer[J]. **Nat Rev Cancer**,2008,8(6):438-449.
- [20] ZHOU W, SRINIVASAN S, NAWAZ Z, et al. ER α , SKP2 and E2F-1 form a feed forward loop driving late ER α targets and G1 cell cycle progression [J]. **Oncogene**,2014,33(18):2341-2353.
- [21] WANG G, CHAN C H, GAO Y, et al. Novel roles of Skp2 E3 ligase in cellular senescence, cancer progression, and metastasis [J]. **Chin J Cancer**,2012,31(4):169-177.
- [22] MITREA D M, YOON M K, OU L, et al. Disorder-function relationships for the cell cycle regulatory proteins p21 and p27[J]. **Biol Chem**,2012,393(4):259-274.
- [23] 赵君,杨春鹿,赵苏英. 肺癌中细胞 S 期激酶相关蛋白 2 的表达及其对预后的影响[J]. **中华肿瘤杂志**,2007,29(4):289-292.
- ZHAO Jun, YANG Chunlu, ZHAO Suying. Expression of Skp2 protein in lung carcinoma and its implication for prognosis [J]. **Chinese Journal of Oncology**,2007,29(4):289-292. (in Chinese)
- [24] WESTERMANN F, HENRICH K O, WEI J S, et al. High Skp2 expression characterizes high-risk neuroblastomas independent of MYCN status [J]. **Clin Cancer Res**,2007,13(16):4695-4703.
- [25] YANG Q, HUANG J, WU Q, et al. Acquisition of epithelial-mesenchymal transition is associated with Skp2 expression in paclitaxel-resistant breast cancer cells[J]. **Br J Cancer**,2014,110(8):1958-1967.
- [26] DOUGLASS S, MEESON A P, OVERBECK-ZUBRZYCKA D, et al. Breast cancer metastasis: demonstration that FOXP3 regulates CXCR4 expression and the response to CXCL12 [J]. **J Pathol**,2014,234(1):74-85.
- [27] LIN H K, WANG G, CHEN Z, et al. Phosphorylation-dependent regulation of cytosolic localization and oncogenic function of Skp2 by Akt/PKB[J]. **Nat Cell Biol**,2009,11(4):420-432.
- [28] GAO D, INUZUKA H, TSENG A, et al. Phosphorylation by Akt1 promotes cytoplasmic localization of Skp2 and impairs APCCdh1-mediated Skp2 destruction [J]. **Nat Cell Biol**,2009,11(4):397-408.
- [29] YANG Q, CHEN C, YANG Z, et al. Suppression of breast cancer proliferation and induction of apoptosis via AKT and ERK1/2 signal transduction pathways by synthetic polypeptide derived from viral macrophage inflammatory protein II [J]. **J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci**,2011,31(4):497-503.