

# 结肠癌中 Claudin-1 表达与血清炎症因子的相关性及其临床意义

周晓华,李 合,田尤京

(海南医学院第一附属医院,海南 海口 570102)

**摘要:** [目的] 探讨结肠肿瘤组织中紧密连接蛋白 Claudin-1 的表达与血清炎症因子的相关性,以及它们与患者临床病理特征、预后的关系。 [方法] 选择结肠癌患者 57 例,采用 RT-PCR 和 Western Blot 方法检测肿瘤组织和癌旁组织中 Claudin-1 的表达,采用 ELISA 的方法检测患者血清炎症因子水平,分析两者的相关性以及两者与患者临床病理特征的关系。绘制 3 年生存曲线,分析 Claudin-1 和炎症因子与患者预后的关系。 [结果] Claudin-1 mRNA 和蛋白均在癌旁组织中低表达,在肿瘤组织中高表达( $1.34 \pm 0.36$  vs  $3.24 \pm 1.47$ ,  $P=0.005$ ;  $0.92 \pm 0.28$  vs  $2.41 \pm 1.25$ ,  $P=0.007$ ); 肿瘤患者血清 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  水平均明显高于健康人群 ( $P=0.010, 0.003, 0.001$ ); Spearman 检验发现 Claudin-1 表达和血清炎症因子水平呈正相关 ( $P<0.05$ ); Claudin-1 蛋白表达及血清炎症因子水平均与 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移有关 ( $P<0.05$ )。 Log-rank (Mantel-Cox) 检验发现 Claudin-1 表达和血清炎症因子水平均是影响患者预后的因素。 [结论] 结肠肿瘤组织中 Claudin-1 的表达和血清炎症因子存在相关性,两者均是患者预后的影响因素。

**关键词:** 结肠肿瘤; Claudin-1; 炎症因子; 临床病理特征; 预后

中图分类号: R735.3+5 文献标识码: A 文章编号: 1671-170X(2020)06-0517-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.06.B010

## Correlation between Claudin-1 and Serum Inflammatory Cytokines in Colon Cancer and Their Clinical Significance

ZHOU Xiao-hua, LI He, TIAN You-jing

(The First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, China)

**Abstract:** [Objective] To explore the relationship between the expression of claudin-1 in colon tumor tissues and serum inflammatory cytokines, and their relationship with the clinicopathological characteristics and prognosis of patients. [Methods] The mRNA and protein expression of Claudin-1 in tumor tissues and pericancerous tissues of 57 colon cancer patients were detected by RT-PCR and Western blot, respectively. The serum levels of inflammatory cytokines of patients were measured by ELISA. The relationship between expression of claudin-1 and serum inflammatory cytokines with clinicopathological characteristics and the prognosis was analyzed. [Results] The expression of claudin-1 mRNA and protein in cancer tissues was significantly higher than that in pericancerous tissues ( $3.24 \pm 1.47$  vs  $1.34 \pm 0.36$ ,  $P=0.005$ ;  $2.41 \pm 1.25$  vs  $0.92 \pm 0.28$ ,  $P=0.007$ ). Serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  of patients were significantly higher than those of healthy subjects ( $P=0.010, 0.003$  and  $0.001$ ). Spearman test revealed a positive correlation between claudin-1 expression and serum inflammatory cytokines ( $P<0.05$ ). Chi-square analysis found that both the levels of claudin-1 and inflammatory cytokines were related to TNM stage, degree of differentiation and lymph node metastasis (all  $P<0.05$ ). Log-rank (Mantel-Cox) test showed that both the levels of claudin-1 expression and inflammatory cytokines were associated with the prognosis of patients. [Conclusion] The expression of claudin-1 in colon tumor tissues is correlated with serum inflammatory cytokines, and both of them are factors affecting the prognosis of patients.

**Subject words:** colon cancer; Claudin-1; inflammatory cytokines; clinicopathologic feature; prognosis

紧密连接蛋白是一类主要表达于黏膜上皮细

胞、对维持黏膜屏障结构和正常生理功能有重要作用的膜蛋白,可以分为闭合蛋白 Claudins、咬合蛋白 Occludin 和连接黏附分子(junction adhesion molecule)等<sup>[1]</sup>。Claudin-1 是 Claudins 家族的主要成员之一,在心、肝、肾、脑、脾、肠、肺等上皮组织中均有不

基金项目:海南省自然科学基金(812201)

通信作者:周晓华,副主任医师,硕士;海南医学院第一附属医院普通外科,海南省海口市龙华路 31 号(570102);E-mail: 13078924598@163.com

收稿日期:2019-08-22;修回日期:2019-09-16

同程度的表达<sup>[2]</sup>。在正常结肠组织中, Claudin-1 参与维持上皮细胞极性, 调节肠道黏膜屏障通透性, 调控肠道对水分的吸收, 同时阻止大分子有害物质通过肠道进入机体, 积极参与机体黏膜屏障保护功能。然而, 在结肠肿瘤组织中, 由于细胞代谢异常, 使 Claudin-1 过度表达<sup>[3]</sup>。研究发现, 结肠癌组织中高表达的 Claudin-1 对结肠的炎症具有促进作用。Claudin-1 高表达和炎症因子 TNF- $\alpha$  水平呈正相关, 它们可以诱导结肠癌细胞上皮间充质转化和迁移<sup>[4]</sup>。另一方面, 高表达的 Claudin-1 激活了 Notch 信号通路, 导致黏膜炎症更容易发生<sup>[5]</sup>。此外, 结肠癌组织中 Claudin-1 的过度表达使细胞极性改变, 导致结肠组织丢失了原有的紧密、有序排列, 使患者更容易产生炎症性疾病<sup>[5]</sup>。目前关于 Claudin-1 与炎症相关性研究较少。本研究通过检测 Claudin-1 在结肠癌组织中的表达和患者血清炎症因子水平, 分析 Claudin-1 与炎症的相关性, 探讨 Claudin-1 表达对结肠癌患者机体炎症的影响及临床意义, 为结肠癌的治疗提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2014 年 3 月至 2015 年 7 月在我院住院治疗的 57 例结肠癌患者为研究对象, 患者术前均未接受放疗、化疗或其他治疗。其中男性 33 例, 女性 24 例; 年龄 25~71 岁, 平均  $54.8 \pm 7.7$  岁, <60 岁 25 例,  $\geq 60$  岁 32 例; 肿瘤直径 <5cm 者 28 例,  $\geq 5$ cm 者 29 例; 有淋巴结转移者 30 例, 无淋巴结转移者 27 例; 低分化 25 例, 高、中分化 32 例; TNM 分期 I~II 期 27 例, III~IV 期 30 例。患者出院后, 通过电话或复诊的方式对患者进行随访, 随访内容包括患者的一般身体状况、影像学复查资料, 随访截止时间为 2018 年 8 月, 无失访病例。患者的总生存时间 (overall survival, OS) 为手术后到死亡的时间。本研究经医院伦理委员会审核批准。

### 1.2 主要试剂和仪器

PCR 引物由苏州金唯智生物科技有限公司合成, 鼠抗人 Claudin-1 抗体购自 Abcam, Trizol 购自 Invitrogen, PrimeScript™ RT reagent Kit 反转录试剂盒购自 Takara, DNAMarker、PCR MasterMix 扩增试

剂盒购自中科瑞泰(北京)生物科技有限公司, TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  检测 ELISA 试剂盒购自上海慧颖生物科技有限公司, 酶标仪(美国 BioTek), 电泳仪(北京六一仪器厂), PCR 仪(Bio-rad), 显影仪(Bio-rad)。

### 1.3 RT-PCR 检测 Claudin-1 mRNA

用 Trizol 法分别提取癌旁组织和结肠肿瘤组织的细胞总 RNA, 按照反转录试剂盒说明书合成 cDNA, 以 cDNA 为模板用于 PCR 扩增, 扩增引物见 Table 1。反应结束后取 PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 以 GAPDH 为内参, 根据电泳条带面积和亮度对 mRNA 的含量进行相对定量分析, 每次实验设三个平行, 取平均值。

Table 1 Primers for RT-PCR

Gene	Primer sequence
Claudin-1	Forward 5'-GCCCTACTTTGCTGTTCTCTG-3'
	Reverse 5'-CCCTTCCCCCAATTGAGTAT-3'
GAPDH	Forward 5'-CGGGAAGCTTGTTCATCAATGG-3'
	Reverse 5'-GGCAGTGATGGCATGGACTG-3'

### 1.4 Western blot 检测 Claudin-1 蛋白

本项目中的标本均来源于患者的手术切除组织并保存于  $-80^{\circ}\text{C}$ 。检测时, 取一定量的肿瘤组织或癌旁组织, 加入 RIPA 裂解液使细胞充分裂解, 并离心收集上清液。使用 BCA 法初步检测蛋白浓度后, 样品经 10% SDS-PAGE 电泳分离约 90min, 完成后将蛋白转移到 PVDF 膜上, 5% 脱脂牛奶室温封闭 2h。加入一抗在  $4^{\circ}\text{C}$  下孵育过夜, 然后加入二抗常温孵育 2h, TBST 洗涤 3 次后使用 WesternBright™ ECL prime 蛋白质显影剂, 并进行半定量分析。

此外, 为了便于进行相关性分析, 将 Claudin-1 蛋白表达水平分级: 当肿瘤组织中 Claudin-1 的表达量高于癌旁组织 2 倍时, 认为该患者 Claudin-1 蛋白高表达, 否则为低表达<sup>[6]</sup>。

### 1.5 血清炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 的测定

手术前 2~3 天, 抽取患者静脉血 5ml, 3000r/min 离心 10min 分离血清, 根据酶联免疫吸附法 (ELISA) 试剂盒说明书测定血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  的含量。另取 10 样本健康人源血清, 以相同的方法测定 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  水平, 取平均值作为对照。

此外, 为了便于进行相关性分析, 将血清炎症因子水平分级: 分别计算患者 3 项炎症因子指标超出

健康对照组的百分比,以高于对照组的1.5倍为高水平,否则为低水平。若患者有2项及以上炎症因子为高水平,则认为该患者总体炎症因子水平较高,否则较低<sup>[7]</sup>。

### 1.6 统计学处理

数据采用SPSS 17.0软件分析,计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示;组间指标比较采用 $\chi^2$ 检验或 $t$ 检验,相关性分析采用Spearman秩相关系数方法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Claudin-1 mRNA、蛋白在肿瘤组织和癌旁组织中的表达

Claudin-1 mRNA在结肠癌、癌旁组织中的相对表达量分别为 $3.24\pm 1.47$ 、 $1.34\pm 0.36$ ,差异有统计学意义( $P=0.005$ );Claudin-1蛋白在结肠癌、癌旁组织中的相对表达量分别为 $2.41\pm 1.25$ 、 $0.92\pm 0.28$ ,差异有统计学意义( $P=0.007$ ),与RT-PCR结果一致。见Figure 1, Table 2。由于Claudin-1的mRNA表达和蛋白表达具有一致性,因此采用Claudin-1蛋白实验数据用于后续分析。

### 2.2 结肠癌患者血清炎症因子水平

如Table 3所示,结肠癌患者血清TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平分别为 $(1.81\pm 1.17)\text{ng/ml}$ 、 $(0.61\pm 0.19)\text{ng/ml}$ 、 $(0.43\pm 0.14)\text{ng/ml}$ ,对照组分别为 $(0.59\pm 0.31)\text{ng/ml}$ 、 $(0.32\pm 0.05)\text{ng/ml}$ 、 $(0.19\pm 0.03)\text{ng/ml}$ ,两组比较各指标差异均有统计学意义( $P=0.010$ 、 $0.003$ 、 $0.001$ )。

### 2.3 Claudin-1与炎症因子的相关性分析

Spearman检验结果显示,Claudin-1蛋白和TNF- $\alpha$ 水平呈正相关( $r=0.268$ , $P=0.043$ );Claudin-1

蛋白与IL-6水平呈正相关( $r=0.415$ , $P=0.007$ );Claudin-1蛋白和IL-1 $\beta$ 也呈正相关( $r=0.441$ , $P=0.004$ )。

### 2.4 Claudin-1蛋白、炎症因子与病理特征的相关性

57例患者中,Claudin-1蛋白高表达38例,低表达19例;炎症因子高表达34例,低表达33例。对Claudin-1蛋白、血清炎症因子和临床病理参数进行相关性分析发现,Claudin-1蛋白表达、血清炎症因子水平均与年龄、性别、肿瘤直径无关( $P$ 均 $> 0.05$ ),而均与TNM分期、分化程度、淋巴结转移有关( $P$ 均 $< 0.05$ )。见Table 4。

### 2.5 Claudin-1蛋白、炎症因子与结肠癌患者生存分析

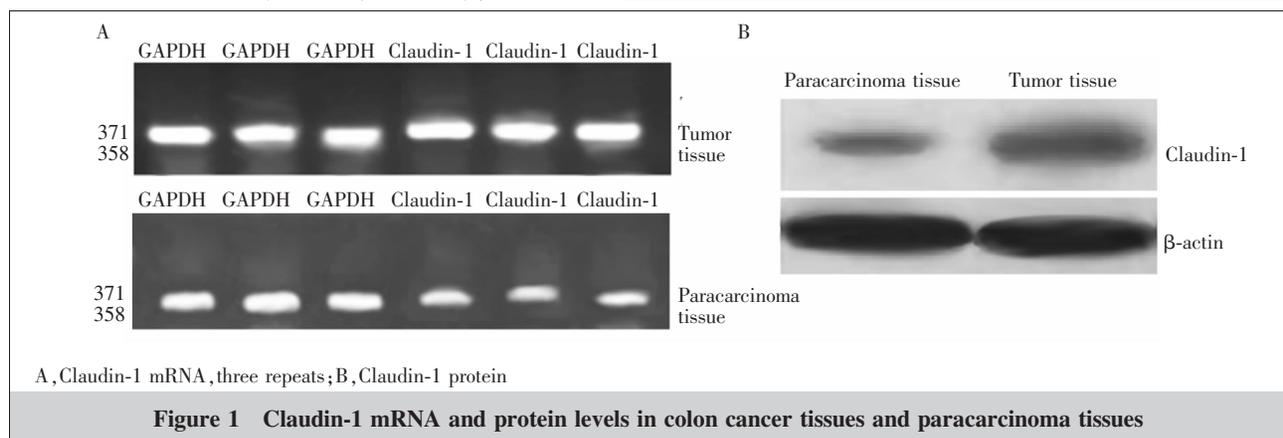
结肠癌患者的3年生存曲线如Figure 2所示,无数据删失。Log-rank (Mantel-Cox)检验发现,Claudin-1高表达和低表达患者的3年生存期比较差异有统计学意义( $P=0.0494$ ,95%CI:1.002~6.534),表明Claudin-1的表达是影响患者预后的因素;炎症因子高水平和低水平患者的3年生存率相比较也有差异( $P=0.0397$ ,95%CI:1.046~6.498),表明炎症因子也是影响患者预后的因素。此外,高Claudin-1患者与高炎症因子患者相比、低Claudin-1患者与低炎

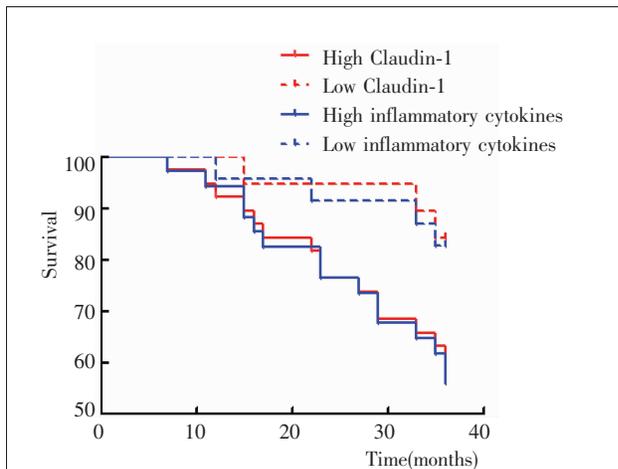
Table 2 Relative expressions of Claudin-1 mRNA and protein

Group	n	Claudin-1 mRNA	Claudin-1 protein
Paracarcinoma tissue	57	1.34±0.36	0.92±0.28
Tumor tissue	57	3.24±1.47	2.41±1.25
<i>t</i>	-	5.816	5.503
<i>P</i>	-	0.005	0.007

Table 3 Levels of inflammatory cytokines

Group	n	TNF- $\alpha$ (ng/ml)	IL-6(ng/ml)	IL-1 $\beta$ (ng/ml)
Healthy	10	0.59±0.31	0.32±0.05	0.19±0.03
Colon cancer	57	1.81±1.17	0.61±0.19	0.43±0.14
<i>t</i>	-	5.162	5.825	5.647
<i>P</i>	-	0.010	0.003	0.001





**Figure 2** The 3-years survival of patients with colon cancer

**Table 4** Relationships between Claudin-1 protein, inflammatory cytokines levels and clinicopathological parameters of colon cancer

Index	n	Claudin-1 protein expression				Inflammatory cytokine levels			
		Low	High	$\chi^2$	P	Low	High	$\chi^2$	P
Age(years)				0.036	0.850			0.246	0.620
<60	25	8	17			11	14		
≥60	32	11	21			12	20		
Gender				0.324	0.569			0.030	0.863
Male	33	12	21			13	20		
Female	24	7	17			10	14		
TNM				5.067	0.024			10.898	0.001
I ~ II	27	13	14			17	10		
III ~ IV	30	6	24			6	24		
Tumor diameter(cm)				0.140	0.708			0.845	0.358
< 5	28	10	18			13	15		
≥ 5	29	9	20			10	19		
Lymphatic metastasis				5.067	0.024			7.620	0.006
Yes	30	6	24			7	23		
No	27	13	14			16	11		
Differentiation				4.311	0.038			7.143	0.008
High and middle	32	7	25			8	24		
Low	25	12	13			15	10		

症因子患者相比,3年生存率差异均无统计学意义 ( $P=0.8843, 0.8738$ )。

### 3 讨论

紧密连接是维持上皮细胞间黏附作用并保持组织完整性的必要结构,同时在控制细胞旁路离子及特定分子运输等方面也发挥重要作用<sup>[8]</sup>。在生理条件下,上皮及内皮间的紧密连接构成物理防御屏障,保护器官不受大分子有毒物质侵害,并作为细胞信

号转导的传感器,影响细胞的极性,调节细胞的分化、增殖、迁移,对机体的正常生理功能具有重要作用<sup>[9]</sup>。然而,在恶性肿瘤等非生理条件下,以 Claudin-1 为代表的紧密连接蛋白异常表达,为肿瘤的发展和转移创造了有利条件。研究表明,Claudin-1 参与了大肠癌、肾细胞癌、卵巢癌、胃癌等多种癌症的发展过程<sup>[10]</sup>。过表达的 Claudin-1 可以抑制 E-cadherin 并上调 E-cadherin/Tcf 信号通路,促进肿瘤的发展<sup>[11]</sup>。另一方面,Claudin-1 可以增加波形蛋白的表达,促进结肠细胞间充质转化和肿瘤生成<sup>[4]</sup>。本研究显示,Claudin-1 mRNA 和 Claudin-1 蛋白在结肠癌组织中表达均显著高于癌旁组织,提示 Claudin-1 的表达异常可能和结肠癌的发生发展有关。研究发现,

Claudin-1 会随着结肠癌的发展逐渐从膜表达转变为细胞质表达,导致细胞内外信号传递异常,引起肿瘤转移<sup>[12]</sup>。此外,Claudin-1 的表达还和结肠癌的分化有关,并指示不同的预后和复发<sup>[13]</sup>。本研究结果表明 Claudin-1 蛋白的表达与 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移有密切关联,与文献报道一致。

在肿瘤的发展中,炎症因子具有不可忽视的作用。首先炎症因子使普通细胞变成炎性细胞,并释放大量的活性介质和细胞因子,如活性氮中间体 (reactive nitrogen intermediates) 和活性氧簇 (reactive oxygen species) 等,损坏细胞 DNA,从而导致肿瘤相关基因激活,最终使细胞癌变<sup>[14]</sup>。其次,肿瘤的发展对炎症因子亦有促进作用。肿瘤组织的微环境以低氧、低 pH、组织高压为主要特点,其中存在着大量的炎性细胞因子,不仅可以募集炎性细胞到肿瘤部位,促进炎症反应,还可以刺激血管、淋巴管生成,为肿瘤的生长和转移提供营养物质和通道<sup>[15]</sup>。此外,免疫系统在杀灭肿瘤细胞以及肿瘤细胞裂解的过程中也会释放大量的炎症因子。TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  在肿瘤的发展过程中起重要作用。本研究显示,结肠癌患

者的血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  水平均显著高于普通人群。临床相关性分析发现, TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  与患者的 TNM 分期、分化程度、淋巴结转移, 以及患者的预后具有明显相关性, 证实了炎症因子在结肠癌发展过程中的重要作用。

越来越多的证据表明肿瘤细胞 Claudin-1 的高表达和炎症因子存在关联。Claudin-1 不仅可以增加炎症因子水平, 炎症因子也可以反过来促进 Claudin-1 的表达。Weiler 等<sup>[6]</sup>研究发现, 使用 TNF- $\alpha$  处理肿瘤细胞后 Claudin-1 的表达明显升高。然而, 目前这方面的研究仍然较少。本研究结果发现, Claudin-1 蛋白的表达和炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  均呈正相关性, 表明在肿瘤的发展中 Claudin-1 和炎症因子具有内在联系, 有关机制有待进一步研究。

## 参考文献:

- [1] Volksdorf T, Heilmann J, Eming SA, et al. Tight junction proteins claudin-1 and occludin are important for cutaneous wound healing[J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(6): 1301–1312.
- [2] Lu Z, Ding L, Lu Q, et al. Claudins in intestines: distribution and functional significance in health and diseases[J]. *Tissue Barriers*, 2013, 1(3): e24978.
- [3] Jiang L, Yang L, Huang H, et al. Prognostic and clinical significance of claudin-1 in colorectal cancer: a systemic review and meta-analysis [J]. *Int J Surg*, 2017, 39(Complete): 214–220.
- [4] Bhat AA, Ahmad R, Uppada SPB, et al. Claudin-1 promotes TNF- $\alpha$ -induced epithelial-mesenchymal transition and migration in colorectal adenocarcinoma cells [J]. *Exp Cell Res*, 2016, 349(1): 119–127.
- [5] Pope JL, Bhat AA, Sharma A, et al. Claudin-1 regulates intestinal epithelial homeostasis through the modulation of Notch-signalling[J]. *Gut*, 2014, 63(4): 622–634.
- [6] Liang XH, Duan GT, Yuan Y. Expression and correlation of Occludin and ZO-1 in endometrial adenocarcinoma [J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2018, 2018 (4): 823–825. [梁晓红, 段广庭, 袁颖. 子宫内膜样腺癌组织中紧密连接蛋白 Occludin 和 ZO-1 的表达及关联性[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 2018(4): 823–825.]
- [7] Huang R, Li MF, Huang Y. The relationship between the level of serum inflammatory factors and the degree of vascular injury in patients with deep vein thrombosis [J]. *Shandong Medical Journal*, 2016, 56(44): 58–60. [黄荣, 李梦帆, 黄毅. 深静脉血栓患者血清炎症因子水平与血管损伤程度的关系[J]. *山东医药*, 2016, 56(44): 58–60.]
- [8] Guo W, Wang P, Liu ZH, et al. Analysis of differential expression of tight junction proteins in cultured oral epithelial cells altered by *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide, and extracellular adenosine triphosphate[J]. *Int J Oral Sci*, 2018, 10(1): e8.
- [9] Aijaz S, Balda MS, Matter K. Tight junctions: molecular architecture and function[J]. *Int Rev Cytol*, 2006, 248: 261–298.
- [10] Li Y, Wu ML, Luo YS, et al. Relationship of Claudin-1 and VEGF-C protein with colorectal cancer[J]. *Chongqing Medicine*, 2016, 45(7): 909–911. [李燕, 吴密璐, 骆玉霜, 等. 紧密连接蛋白 1 和血管内皮生长因子 C 蛋白与大肠癌的关系研究[J]. *重庆医学*, 2016, 45(7): 909–911.]
- [11] Singh AB, Sharma A, Smith JJ, et al. Claudin-1 up-regulates the repressor zeb-1 to inhibit e-cadherin expression in colon cancer cells [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(6): 2140–2153.
- [12] Li BJ, Zhao EY, Meng Y, et al. Expression of Claudin-1 in oral squamous cell carcinoma [J]. *China Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2012, 10(3): 203–206. [李宝军, 赵尔杨, 孟琰, 等. Claudin-1 在口腔鳞状细胞癌中的表达[J]. *中国口腔颌面外科杂志*, 2012, 10(3): 203–206.]
- [13] Li DS, Wang W, Li Q, et al. Expression and significance of HER-2 and Claudin-1 in colon cancer [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2012, 33(2): 237–239. [李东升, 王巍, 李晴, 等. 结肠癌组织中 Her-2 和 Claudin-1 的表达及意义[J]. *广东医学*, 2012, 33(2): 237–239.]
- [14] Wang ZQ, Qi YF. Inflammation: catalyst of tumor[J]. *World Latest Medicine Information*, 2016, 16 (14): 70–71. [汪自清, 齐元富. 炎症: 肿瘤的催化剂[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2016, 16(14): 70–71.]
- [15] Ge TW, Cui JW. Research progress on the mechanism of tumor and tumor inflammation microenvironment promoting each other [J]. *Chinese Journal of Clinical Laboratory Science*, 2017, 35(11): 832–835. [葛婷雯, 崔久嵬. 肿瘤与肿瘤炎症微环境相互促进机制研究进展[J]. *临床检验杂志*, 2017, 35(11): 832–835.]
- [16] Weiler J, Mohr M, Zänker KS, et al. Matrix metalloproteinase-9(MMP9) is involved in the TNF- $\alpha$ -induced fusion of human M13SV1-Cre breast epithelial cells and human MDA-MB-435-pFDR1 cancer cells [J]. *Cell Commun Signal*, 2018, 16(1): 14.