

# RNA 干扰 ITGA5 的表达对宫颈癌细胞生长和侵袭的影响

董晶 商双 谢锋<sup>△</sup>

(复旦大学附属妇产科医院宫颈及阴道早期疾病诊治中心 上海 200011)

**【摘要】** 目的 研究 ITGA5 经 RNA 干扰后对宫颈癌细胞生长和侵袭的影响。方法 应用 TNMplot、Kaplan-Meier Plotter、Human Protein Atlas 数据库分析 ITGA5 在宫颈癌中的表达和对患者生存率的影响,采用两条靶向 ITGA5 的特异 siRNA 序列,进行 RNA 干扰实验。实验分为 siITGA5#1 干扰组、siITGA5#2 干扰组和阴性对照组(非特异性 siRNA)。实时定量 PCR 和 Western blot 法分别检测宫颈癌细胞中 ITGA5 的 mRNA 与蛋白水平,筛选内源性 ITGA5 呈高表达的 HeLa 及 C-33A 细胞做后续实验。Western blot 法评估 siRNA 干扰后宫颈癌 HeLa/C-33A 细胞中 ITGA5 水平,并先后检测 c-Myc、BCL-2、Bax 及 Vimentin、E-cadherin 的表达变化,CCK-8 法检测 HeLa/C-33A 细胞增殖,流式细胞术检测细胞凋亡,Transwell 小室侵袭实验评估细胞侵袭能力。结果 与阴性对照组相比,特异性 siRNA 显著下调宫颈癌 HeLa/C-33A 细胞中 ITGA5 蛋白的表达;宫颈癌细胞增殖明显受抑,细胞凋亡显著增加( $P<0.05$ );c-Myc 和 BCL-2 表达下降、Bax 表达升高。干扰 ITGA5 后,HeLa/C-33A 细胞侵袭能力显著降低,间质性标记物 Vimentin 的表达明显受抑,上皮细胞标记物 E-cadherin 表达水平明显增加。结论 ITGA5 经 RNA 干扰后,能明显抑制宫颈癌细胞生长和侵袭,ITGA5 对宫颈癌细胞侵袭能力的影响可能是通过调控上皮细胞间质化来实现的。

**【关键词】** 宫颈癌; ITGA5; 细胞增殖; 凋亡; 侵袭

**【中图分类号】** R737.33 **【文献标志码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2023.03.003

## Effect of RNA interference with ITGA5 expression on cervical cancer cell growth and invasion

DONG Jing, SHANG Shuang, XIE Feng<sup>△</sup>

(The Center for Diagnosis and Treatment of Early Cervical and Vaginal Diseases, Obstetrics and Gynecology Hospital, Fudan University, Shanghai 200011, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of ITGA5 on cervical cancer cell growth and invasion after RNA interference. **Methods** The expression of ITGA5 in cervical cancer and the effect on patient survival rates were analyzed by database TNMplot, Kaplan-Meier Plotter and Human Protein Atlas. RNA interference experiments were performed by using two specific siRNA sequences targeting ITGA5. The experiment was divided into three groups: siITGA5#1 interference group, siITGA5 # 2 interference group, and negative control group (non-specific siRNA). The mRNA and protein levels of ITGA5 in cervical cancer cells were measured by real-time quantitative PCR and Western blot, respectively, and HeLa and C-33A cells with high expression of endogenous ITGA5 were screened for subsequent experiments. ITGA5 levels in HeLa/C-33A cells after siRNA interference and the expression changes of c-Myc, BCL-2, Bax and Vimentin and E-cadherin were detected by Western blot. HeLa/C-33A cell

国家自然科学基金(82072872)

<sup>△</sup>Corresponding author E-mail: fengxie10@fudan.edu.cn

网络首发时间:2022-08-09 16:42:00 网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.R.20220808.1330.002.html>

proliferation was determined by CCK-8, apoptosis was measured by flow cytometry, cell invasion ability was assessed by the Transwell compartment invasion assay. **Results** Specific siRNA significantly downregulated ITGA5 protein expression in cervical cancer HeLa/C-33A cells when compared with negative controls; cervical cancer cell proliferation was significantly inhibited, while apoptosis increased ( $P<0.05$ ), the expression of c-Myc and BCL-2 was decreased, while Bax was elevated. After interference with ITGA5, HeLa / C-33A cells showed a significantly reduced invasion capacity. Expression of the interstitial marker Vimentin was significantly suppressed, while E-cadherin (an epithelial cell marker) was significantly increased. **Conclusion** ITGA5 can significantly inhibit cervical cancer cell growth and invasion after RNA interference, and the effect of ITGA5 on the invasive ability of cervical cancer cells may be achieved by regulating interstitialization of epithelial cells.

**【Key words】** cervical cancer; ITGA5; cell proliferation; apoptosis; invasion

\* This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82072872).

宫颈癌目前是全球女性第四大恶性肿瘤,在我国女性生殖系统肿瘤中高居第二<sup>[1-2]</sup>,且国内其发病率和死亡率都呈逐年增长趋势<sup>[3-4]</sup>,严重增加社会经济负担。宫颈癌的治疗往往存在术后转移,对化疗耐药,对放疗不敏感等问题,免疫治疗和靶向治疗成为近年的研究热点<sup>[5-8]</sup>。

整合素家族是一类由 $\alpha$ 和 $\beta$ 两个亚基通过非共价形成的异二聚体跨膜蛋白,在不同细胞或细胞中充当细胞表面黏附受体介导细胞之间或者细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)之间的双向信号转导<sup>[9-10]</sup>。ITGA5是整合素 $\alpha$ 链家族的成员,位于人染色体12q13.13上,主要通过整合素 $\beta 1$ 形成 $\alpha 5 \beta 1$ 异二聚体跨膜蛋白发挥功能<sup>[11-12]</sup>。研究表明ITGA5在多种肿瘤中显著上调,通过调节肿瘤细胞的生长、迁移、侵袭和上皮间质转化参与肿瘤进展<sup>[13-14]</sup>。进一步研究表明,ITGA5还与肿瘤细胞的干细胞特性相关,并能维持化疗抵抗<sup>[15-16]</sup>。这些研究结果提示ITGA5可作为肿瘤转移和化疗抵抗的潜在治疗靶点。然而,ITGA5在宫颈癌中的表达和生物学功能仍然未知。本研究通过数据库分析ITGA5在宫颈癌中的表达,并从细胞水平探讨ITGA5对宫颈癌细胞生长和侵袭的影响。

## 材 料 和 方 法

**主要实验试剂** 永生化的宫颈上皮细胞NC104以及人宫颈癌细胞系CaSki、ME-180、SiHa、HeLa和C-33A购自上海生科院细胞所并保存于液氮中;胎牛血清(FBS)与DMEM高糖培养基购自美

国HyClone公司;青霉素-链霉素购自北京天根生物科技有限公司;Cell Counting Kit-8试剂盒购自日本Dojindo Molecular Technologies公司;Transwell基质胶以及AnnexinV-FITC/PI凋亡检测试剂盒购自美国BD Biosciences公司;兔抗鼠c-Myc多克隆抗体(1:1 000)、E-cadherin多克隆抗体(1:1 000)、Vimentin多克隆抗体(1:1000)、BCL-2多克隆抗体(1:1 000)购自美国Cell Signaling Technology公司;Bax多克隆抗体(ab32503, 1:1 000)、兔抗鼠ITGA5多克隆抗体(1:1 000)购自美国Thermo Fisher Scientific公司;GAPDH内参抗体以及二抗购自北京康为世纪生物科技有限公司。

**数据分析** 分别使用TNMplot数据库(<https://tnmplot.com/analysis/>)评估ITGA5 mRNA的表达;Human Protein Atlas数据库(HPA, <https://www.proteinatlas.org/>)评估ITGA5在宫颈癌组织中的蛋白表达及预后;Kaplan-Meier Plotter数据库(<https://kmplot.com/analysis/>)评估ITGA5的mRNA水平与预后的相关性。

**细胞培养** 人宫颈癌细胞系HeLa与C-33A用含有10%FBS的DMEM高糖培养基置于37℃、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱中培养。每隔一天更换新鲜培养基。

**干扰序列** 两条靶向ITGA5的特异性siRNA和非特异性siRNA均购自上海吉玛基因股份有限公司。

**实验分组** 实验分为3组:siITGA5#1干扰组、siITGA5#2干扰组和阴性对照组(非特异性siRNA)。

**siRNAs转染HeLa/C-33A细胞** 对数期生长的细胞约 $1 \times 10^6$ 个接种于直径10 cm的细胞培养皿中,待细胞融合度达到40%~60%时瞬时转染阴性

对照(Control)或 ITGA5 siRNAs,转染过程参照 lipofectamine RNAiMAX(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)说明书。转染 48 h 后收集蛋白验证干扰效率以及后续实验。

**RNA 的提取以及实时定量 PCR** 根据 Trizol 说明书提取细胞总 RNA,引物序列如下:内参 GAPDH 引物序列,上游 5'-ACAACCTTTGGTATCGTGGAAGG-3',下游 5'-GCCATCACGCCACAGTTTC-3',片段长度 101 bp;ITGA5 引物序列,上游 5'-GGCTTCAACTTAGACGCGGAG-3',下游 5'-TGGCTGGTATTAGCCTTGGGT-3',片段长度 140 bp。反应程序:95 °C 预变性 10 min,95 °C 变性 30 s,60 °C 退火以及延伸 1 min,40 个循环。以 GAPDH 作为参照分析目的基因的表达差异。

**细胞活力测定** 收集对数期生长的细胞,将大约 800 个细胞接种到 96 孔板每孔,分别于 24、48、72 h 时将 10  $\mu$ L 的 CCK 8 试剂添加到每个孔中,在 37 °C 下孵育 2 h。用酶标仪(Bia-Rad)在 450 nm 处检测各孔的吸光度值,描述细胞生长曲线。

**流式细胞仪检测细胞凋亡** 转染 48 h 后的细胞使用不含 EDTA 的胰酶消化细胞并收集,并根据 AnnexinV-FITC/PI 凋亡检测试剂盒(美国 BD Biosciences 公司)说明书染色,标记早期和晚期凋亡细胞并通过流式细胞仪检测样品的凋亡水平。

**Transwell 检测** 将融化的 Matrigel 基质胶(美国 BD Biosciences 公司)用预冷无血清培养基按 1:5 稀释,加入 Transwell 小室,放入细胞培养箱中孵育 2 h。收集细胞,约  $2 \times 10^4$  个(100  $\mu$ L 无血清培养基)细胞接种到上层 Transwell 上层,并将 600  $\mu$ L 含 20% FBS 的培养基添加到下室中。细胞培养箱中继续培养 24~36 h,然后将细胞在 4% 多聚甲醛中固定 20 min,用 0.1% 结晶紫染色 15 min。使用棉棒去除未穿透的上部细胞后,对侵袭的细胞进行拍照和计数。

**Western blot 检测** 将含有蛋白酶抑制剂 PMSF 的 RIPA 细胞裂解液(美国 CST 公司)溶解细胞提取蛋白,冰上裂解 30 min 后,4 °C 11 000 $\times g$  离心后取上清测定蛋白浓度。加入上样缓冲液(北京索莱宝科技有限公司)100 °C 加热 10 min,在 10% 的 SDS-PAGE 凝胶中分离、转膜、5% 脱脂奶粉封闭 30 min,根据目的蛋白的相对分子质量裁剪条带并与相应的抗体在 4 °C 孵育过夜,洗膜后使用山羊抗

兔 IgG-HRP 二抗 60 min,随后显色、曝光。GAPDH 作为管家基因标准化蛋白质表达。

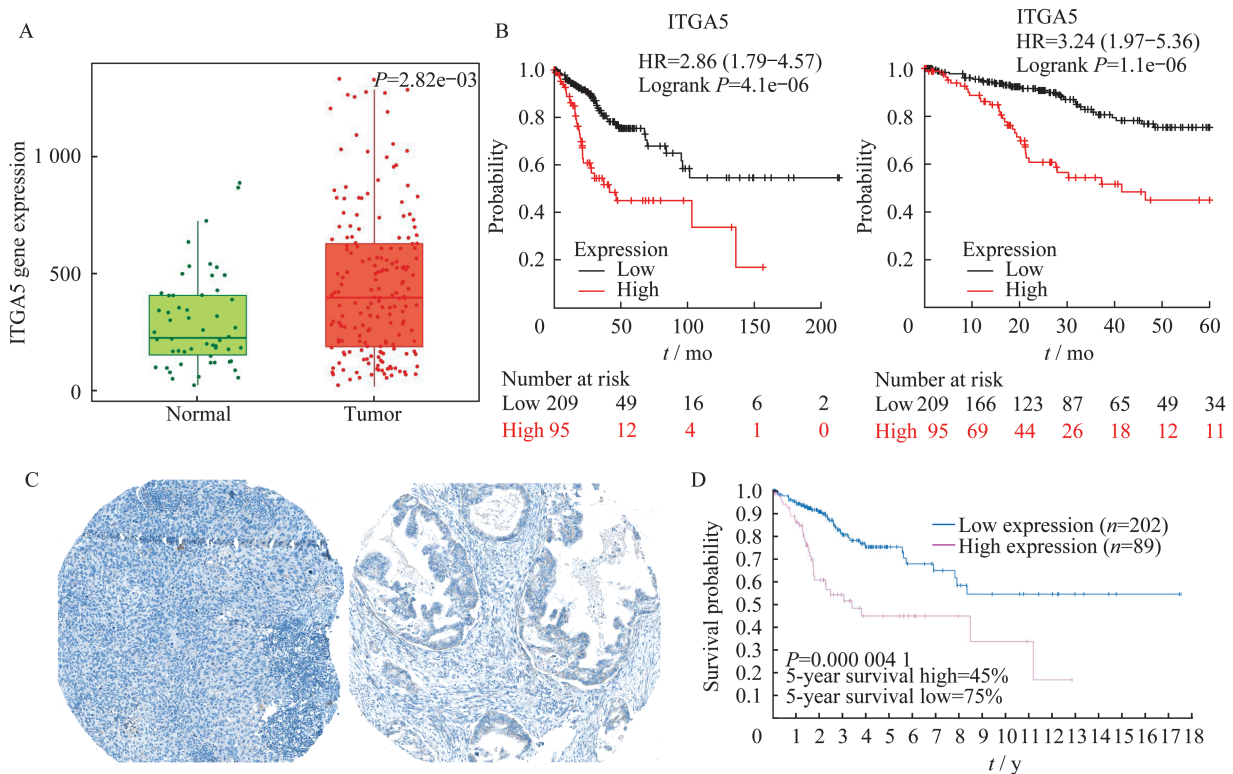
**统计学分析** 采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计学分析并制图,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间数据差异使用 *t* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

**ITGA5 在宫颈癌患者中的表达水平以及生存分析** 为了阐明 ITGA5 在宫颈癌中的作用,我们先应用依赖于肿瘤基因组图谱(TCGA)的 GEPIA2 和 UALCAN 数据库分析平台,发现缺少足够的对照病例,分析结果不可靠。因此我们换用 TNMplot 数据库分析了 ITGA5 mRNA 在正常组织以及肿瘤中的表达,发现 ITGA5 的 mRNA 水平在宫颈癌组织中显著升高(图 1A)。Kaplan-Meier 分析表明,ITGA5 呈高表达的宫颈癌患者 5 年以及 5 年以上总体生存率较低(图 1B)。Human Protein Atlas 数据库显示:宫颈癌组织中的 ITGA5 蛋白表达水平与宫颈癌患者总体生存率呈负相关(图 1C~D)。上述分析表明 ITGA5 在宫颈癌中呈高表达并可能作为原癌基因促进宫颈癌进展。

**敲低 ITGA5 的表达抑制宫颈癌细胞增殖和诱导细胞凋亡** 鉴于 ITGA5 在宫颈癌组织中呈高表达,我们进一步在细胞水平做功能研究。首先检测了 ITGA5 的 mRNA 及蛋白水平在正常宫颈上皮细胞 NC104 和宫颈癌细胞 CaSki、ME-180、SiHa、HeLa、C33A 中的表达。与 NC104 细胞比较,内源性 ITGA5 的 mRNA 及蛋白水平在多类宫颈癌细胞中呈高表达,尤其在 HeLa 及 C-33A 细胞中高表达最为显著(图 2A),故选择这两种细胞用于敲低 ITGA5 做后续实验。采用 ITGA5 特异性 siRNAs 转染 HeLa/C-33A 细胞,Western blot 检测显示 siRNAs 可有效下调 HeLa/C-33A 细胞内 ITGA5 的表达;干扰 ITGA5 后,细胞裂解液中增殖基因蛋白 c-Myc、抗凋亡因子 BCL-2 显著下调,促凋亡因子 Bax 明显增加(图 2B)。CCK-8 实验结果显示,与对照组相比,ITGA5 干扰组的细胞生长明显受抑(图 2C,  $P < 0.01$ ,  $t = 7.932$ )。流式细胞术分析结果显示,干扰 ITGA5 后,HeLa/C-33A 细胞凋亡水平显著提高(图 2D,  $P < 0.01$ ,  $t = 8.908$ )。上述结果表明 ITGA5 是影响宫颈癌细胞生长的重要基因,ITGA5





A: Differential expressions of ITGA5 between cervical cancer tissues and normal tissues were analyzed by TNMplot. B: Overall survival and 5 years overall survival were analyzed by Kaplan-Meier Plotter. C: IHC analysis of the tissue microarray by staining the ITGA5 antibody ( $\times 100$ ). The typical image of ITGA5 in the cervical cancer tissue was shown. D: The ITGA5 related overall survival in cervical cancer was analyzed by Human protein atlas.

图1 ITGA5在宫颈癌组织中的表达以及患者的生存分析

Fig 1 ITGA5 expression in cervical cancer tissues and the survival analysis of the patients

对宫颈癌细胞生长的抑制作用可能是通过调控增殖和凋亡相关蛋白来实现的。

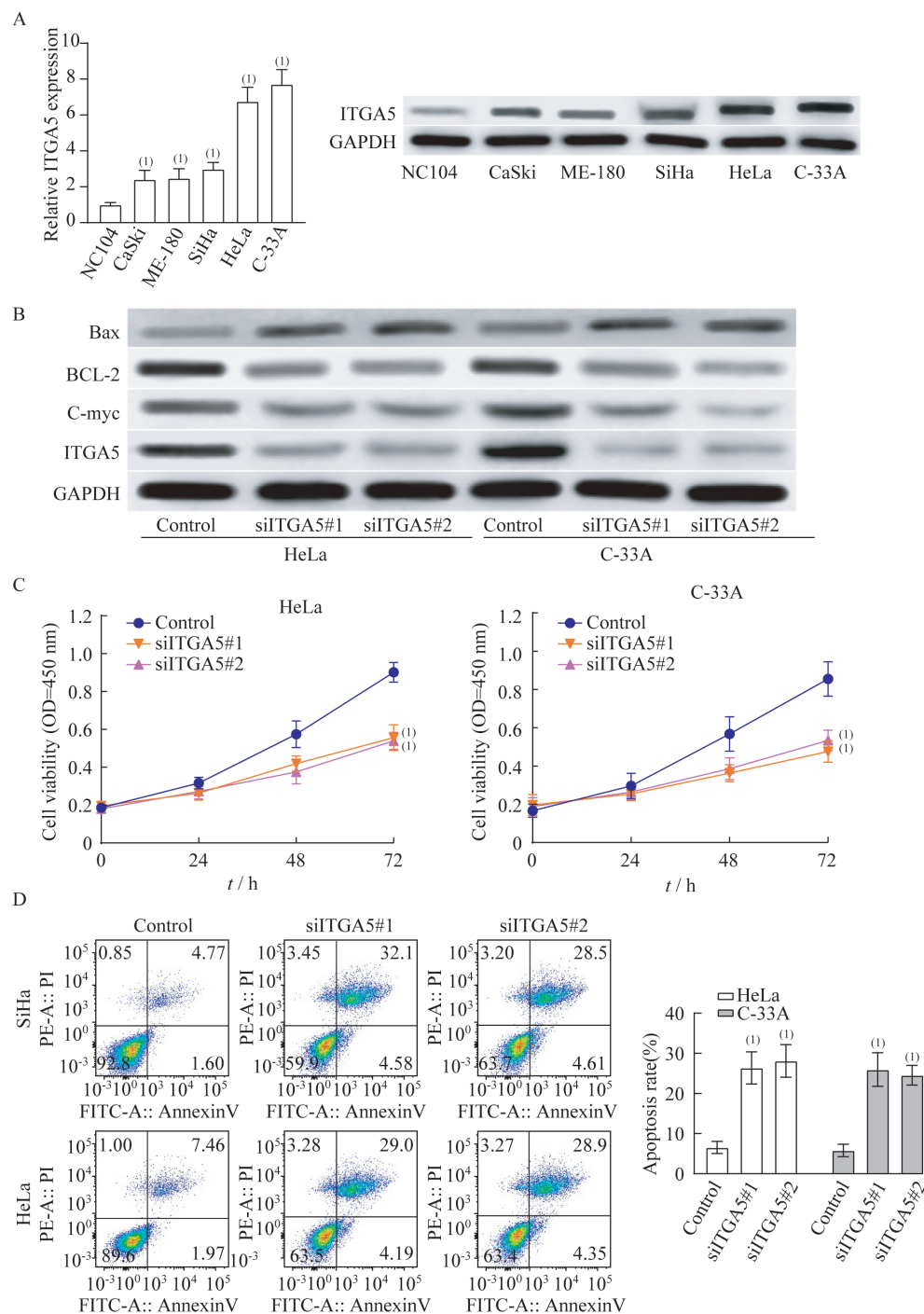
**体外敲低 ITGA5 的表达抑制宫颈癌细胞的侵袭以及相关基因** 肿瘤细胞的迁移是肿瘤转移的直接原因,而细胞迁移的前提取决于细胞的侵袭能力。因此我们应用 Transwell 小室侵袭实验评估 ITGA5 对宫颈癌细胞的侵袭能力影响。结果显示干扰内源性 ITGA5 的表达大大降低了宫颈癌细胞的侵袭能力(图 3A,  $P<0.01$ ,  $t=8.248$ )。Western blot 进一步检测上皮细胞间质化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)标记物,发现下调内源性 ITGA5 能显著抑制间质性标记物波形蛋白(Vimentin),并上调上皮细胞标记物 E-钙黏蛋白(E-cadherin)的表达(图 3B)。

## 讨 论

ITGA5 是整合素  $\alpha$  链家族的成员,与整合素  $\beta$

形成异二聚体跨膜受体参与细胞与细胞外基质的附着和细胞与细胞外基质的双向信号传导<sup>[9]</sup>。ITGA5 在多种肿瘤中呈高表达, Zhou 等<sup>[17]</sup>使用 GEO 数据库以及 TCGA 数据库分析了 ITGA5 在喉鳞状细胞癌中的表达,发现 ITGA5 在喉鳞状细胞癌组织中的表达上调,高表达 ITGA5 的喉鳞状细胞癌患者总生存率以及无复发生存率显著降低。Pantano 等<sup>[18]</sup>通过分析大数据标本,发现早期乳腺癌患者原发性肿瘤中 ITGA5 的高表达与乳腺癌骨转移正相关,可作为乳腺癌溶骨性病变的治疗靶点。Zhu 等<sup>[19]</sup>通过分析 Oncomine 与 Tumor Immune Estimation Resource (TIMER) 数据库,发现 ITGA5 是胃肠道肿瘤免疫细胞浸润的重要调节因子,是有价值的预后生物标志物。越来越多的研究表明 ITGA5 的上调与肿瘤侵袭和进展密切相关。Fan 等<sup>[20]</sup>报道了 ITGA5 在口腔鳞状细胞癌上调,干扰口腔鳞状细胞癌细胞系的内源性 ITGA5 表达,可以通过调节 PI3K/AKT 信号通路抑制肿瘤细胞的生长





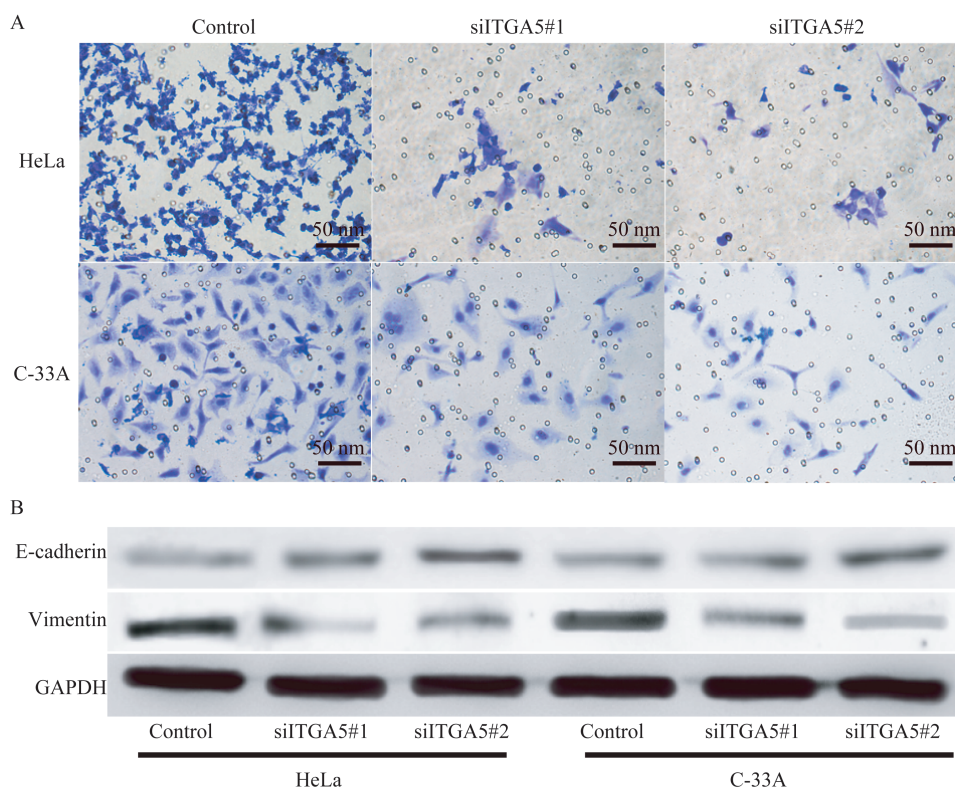
A: The mRNA and protein of ITGA5 in cervical cancer cells determined by qRT-PCR and Western blot, respectively. <sup>(1)</sup>vs. NC104,  $P < 0.05$ . B: HeLa/C-33A cells were transfected with Control, siITGA5#1, or siITGA5#2 for 48 h. Cells were collected for Western blot analysis. C: Cell proliferation was analyzed by CCK-8 assay. <sup>(1)</sup>vs. Control,  $P < 0.05$ . D: Cell apoptosis was detected by flow cytometry. Data presents as mean  $\pm$  SD with 3 replicates. <sup>(1)</sup>vs. Control,  $P < 0.01$ .

图2 干扰ITGA5的表达抑制宫颈癌细胞增殖并促进凋亡

Fig 2 Interference with the expression of ITGA5 inhibits cervical cancer cell proliferation and promotes apoptosis

与侵袭。另有研究表明,ITGA5通过诱导肿瘤细胞发生EMT来促进口腔鳞状细胞癌的侵袭<sup>[11]</sup>。靶向下调ITGA5可通过降低 $\beta$ -catenin入核,调节下游原

癌基因的转录,从而实现体内抑制乳腺癌的生长<sup>[21]</sup>。Yu等<sup>[13]</sup>发现O-(连接)-N-乙酰葡萄糖胺(O-GlcNAc)糖基化修饰(O-GlcNAcylation)的ITGA5



A: Cell invasion assessed by Transwell assay. The number of migrated or invaded cells were presented as the mean  $\pm$  SD of three independent experiments. B: Western blot reveals the change of main proliferation markers and apoptosis markers after ITGA5 knockdown.

图3 干扰 ITGA5 的表达抑制宫颈癌细胞的侵袭以及影响相关基因

Fig 3 Interference with ITGA5 expression suppressed the invasion of cervical cancer cells and affected related genes

在促进肿瘤的生长以及转移等恶性生物学功能中具有很好的临床学意义。最近的研究表明 ITGA5 的上调还与肿瘤的耐药性有关, Kuninty 等<sup>[16]</sup>发现仅仅干扰胰腺星状细胞中内源性的 ITGA5 表达, 就能有效抑制胰腺细胞结缔组织增生, 增强胰腺化疗效果。同样, ITGA5 的高表达是胶质瘤患者抵抗 Temozolomide 与 Bevacizumab 治疗效果的关键因素<sup>[22]</sup>。

然而, ITGA5 在宫颈癌的研究报道较为罕见。为了探索 ITGA5 在宫颈癌中可能的生物学功能, 我们首先使用数据库查询发现 ITGA5 在宫颈癌组织中亦显著上调, 且 ITGA5 高表达的宫颈癌患者总生存率显著下降。蛋白水平数据亦支持 ITGA5 作为一个原癌基因参与宫颈癌的进程。这个分析与 ITGA5 在其他肿瘤中的报道一致。

在后续细胞实验中, 我们发现靶向 ITGA5 的 siRNAs 敲低内源性 ITGA5 的表达后, 宫颈癌细胞系的增殖能力显著降低, 凋亡水平增加, 表明 ITGA5 对宫颈癌细胞的生长有促进作用。ITGA5 作为整合素家族的重要成员, 可为细胞的机械黏附

提供桥梁, 并增加肿瘤细胞转移和侵袭的能力<sup>[19]</sup>。因此, 我们进一步检测了 ITGA5 对宫颈癌细胞侵袭能力的影响, 结果显示干扰 ITGA5 后, 宫颈癌细胞的侵袭能力明显降低。

上皮细胞通过特定程序转化为具有间质表型的细胞即 EMT, 这个生物学过程赋予了细胞入侵和转移的能力。通过 EMT, 上皮细胞失去了细胞极性, 缺失了与基底连接等上皮表型, 从而获得了较高的侵袭、抗凋亡和降解细胞外基质的能力等间质表型。因此, EMT 是上皮细胞来源的恶性肿瘤细胞获得侵袭和迁移能力的重要生物学过程。Vimentin 和 E-cadherin 是 EMT 过程中两个主要的分子标记物。Vimentin 是存在于间充质细胞中的一种中间丝蛋白, 能使上皮细胞失去极性、破坏细胞间紧密连接结构, 改变细胞骨架, 减弱黏附力、促进肿瘤细胞侵袭和远处转移。相反, E-cadherin 可维持细胞间紧密连接, 阻止细胞活动侵袭及转移扩散。本研究敲低 ITGA5 表达后, 宫颈癌细胞侵袭能力显著下降, 同时 Vimentin 表达下降、E-cadherin 表达上调, 提示 ITGA5 对宫颈癌细胞侵袭能力的影响

可能是通过调控EMT实现的。

综上所述,我们使用数据库分析了ITGA5作为宫颈癌原癌基因的可能性,并通过细胞实验证实了ITGA5对宫颈癌细胞的生长和侵袭能力发挥重要的作用。但是阐明其分子机制还需要更深入的研究,其作为治疗靶点的可能性有待于进一步探索。

**作者贡献声明** 董晶 数据采集,论文构思、撰写和修订。商双 辅助数据采集和论文修订。谢锋 数据统计和分析,模型运算,论文修订。

**利益冲突声明** 所有作者均声明不存在利益冲突。

## 参 考 文 献

- [1] SIEGEL RL, MILLER KD, FUCHS HE, *et al.* Cancer statistics, 2022[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33.
- [2] XIA C, XU X, ZHAO X, *et al.* Effectiveness and cost-effectiveness of eliminating cervical cancer through a tailored optimal pathway: a modeling study[J]. *BMC Med*, 2021, 19(1): 62.
- [3] 张仲华, 刘晨瑛, 任会叶, 等. 2003—2018年间中国女性宫颈癌发病与死亡趋势研究[J]. *中华疾病控制杂志*, 2022, 26(1): 14-20.
- [4] 魏长慧, 朱继存, 牛媛娜, 等. 2004—2016年中国女性生殖系统恶性肿瘤死亡趋势分析[J]. *中华疾病控制杂志*, 2019, 23(5): 506-511.
- [5] ALLOUCH S, MALKI A, ALLOUCH A, *et al.* High-risk HPV oncoproteins and PD-1/PD-L1 interplay in human cervical cancer: recent evidence and future directions[J]. *Front Oncol*, 2020, 10(9): 914.
- [6] LI X, WANG R, FAN P, *et al.* A comprehensive analysis of key immune checkpoint receptors on tumor-infiltrating T cells from multiple types of cancer[J]. *Front Oncol*, 2019, 9(10): 1066.
- [7] MANDAL P, SAHA SS, SEN S, *et al.* Cervical cancer subtypes harbouring integrated and/or episomal HPV16 portray distinct molecular phenotypes based on transcriptome profiling of mRNAs and miRNAs[J]. *Cell Death Discov*, 2019, 3(5): 81.
- [8] COHEN PA, JHINGRAN A, OAKNIN A, *et al.* Cervical cancer[J]. *The Lancet*, 2019, 393(10167): 169-182.
- [9] DESGROSELLIER JS, CHERESH DA. Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(1): 9-22.
- [10] LI J, CHEN H, XU Y, *et al.* Integrin endocytosis on elastic substrates mediates mechanosensing[J]. *J Biomech*, 2016, 49(13): 2644-2654.
- [11] DENG Y, WAN Q, YAN W. Integrin  $\alpha_5$ /ITGA<sub>5</sub> promotes the proliferation, migration, invasion and progression of oral squamous carcinoma by epithelial-mesenchymal transition[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11(10): 9609-9620.
- [12] LIU Y, LI Y, LIANG J, *et al.* The mechanism of leptin on inhibiting fibrosis and promoting browning of white fat by reducing ITGA5 in mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(22): 12353.
- [13] YU M, CHU S, FEI B, *et al.* O-GlcNAcylation of ITGA5 facilitates the occurrence and development of colorectal cancer[J]. *Eep Cell Res*, 2019, 382(2): 111464.
- [14] JU JA, GODET I, YE IC, *et al.* Hypoxia selectively enhances integrin  $\alpha_5\beta_1$  receptor expression in breast cancer to promote metastasis[J]. *Mol Cancer Res*, 2017, 15(6): 723-734.
- [15] LU L, XIE R, WEI R, *et al.* Integrin alpha5 subunit is required for the tumor supportive role of fibroblasts in colorectal adenocarcinoma and serves as a potential stroma prognostic marker[J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(12): 2697-2714.
- [16] KUNINTY PR, BANSAL R, DE GEUS SWL, *et al.* ITGA5 inhibition in pancreatic stellate cells attenuates desmoplasia and potentiates efficacy of chemotherapy in pancreatic cancer[J]. *Sci Adv*, 2019, 5(9): eaax2770.
- [17] ZHOU C, SHEN Y, WEI Z, *et al.* ITGA5 is an independent prognostic biomarker and potential therapeutic target for laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *J Clin Lab Anal*, 2022, 36(2): 24228.
- [18] PANTANO F, CROSET M, DRIOUCH K, *et al.* Integrin alpha5 in human breast cancer is a mediator of bone metastasis and a therapeutic target for the treatment of osteolytic lesions[J]. *Oncogene*, 2021, 40(7): 1284-1299.
- [19] ZHU H, WANG G, ZHU H, *et al.* ITGA5 is a prognostic biomarker and correlated with immune infiltration in gastrointestinal tumors[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 269.
- [20] FAN QC, TIAN H, WANG Y, *et al.* Integrin-alpha5 promoted the progression of oral squamous cell carcinoma and modulated PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Arch Oral Biol*, 2019, 101(8): 85-91.
- [21] LI Y, XIAO Y, LIN HP, *et al.* In vivo beta-catenin attenuation by the integrin alpha5-targeting nano-delivery strategy suppresses triple negative breast cancer stemness and metastasis[J]. *Biomaterials*, 2019, 188(1): 160-172.
- [22] SHI Y, WU M, LIU Y, *et al.* ITGA5 predicts dual-drug resistance to temozolomide and bevacizumab in glioma[J]. *Front Oncol*, 2021, 12(11): 769592.

(收稿日期: 2022-03-06; 编辑: 张秀峰)