

藏族药翼首草正丁醇部位提取物体外抑制人肝癌 Hep3B 细胞增殖和侵袭转移

郭晨旭, 吴迎春, 朱元章, 田丽莉, 陆怡, 韩聪, 朱国福*
(上海中医药大学 中药学院, 上海 201203)

[摘要] 目的:本研究旨在体外筛选出藏族药翼首草正丁醇部位提取物(YSC-ZDC)抑制人肝癌 Hep3B 细胞侵袭转移的有效萃取部位,并对其抗肿瘤作用机制进行初步探讨。方法:取对数生长期 Hep3B 细胞,调整细胞密度为 $4 \times 10^4/\text{mL}$ (MTT法)或 $2.5 \times 10^5/\text{mL}$ (Western blot, heochst 33258 实验), $1 \times 10^5/\text{mL}$ (划痕实验), $5 \times 10^4/\text{mL}$ (Transwell 实验),培养 24, 48, 72 h 后分别加入不同质量浓度的药物($50, 100, 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),分组设 3~4 个复孔。通过 MTT 法检测 YSC-ZDC 对于 Hep3B 细胞增殖的影响,形态观察该药对 Hep3B 细胞凋亡的影响。划痕实验和 Transwell 小室检测 YSC-ZDC 对 Hep3B 细胞侵袭、迁移的影响;Western blot 检测侵袭转移相关信号通路分子表达的变化。结果:YSC-ZDC $50, 100, 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 作用于 Hep3B 细胞 24, 48, 72 h 后可明显抑制其增长。 $50, 100, 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ YSC-ZDC 作用于 Hep3B 细胞 24 h 后可明显抑制其侵袭和迁移;YSC-ZDC 可明显影响上皮-间质转化(EMT)相关蛋白 E-钙黏素, N-钙黏素(E-cadherin, N-cadherin)和纤维连接蛋白(FN)的表达($P < 0.05$)。结论:YSC-ZDC 能显著抑制 Hep3B 细胞的增殖和侵袭转移,并诱导 Hep3B 细胞凋亡,其作用机制可能与 EMT 有关。

[关键词] 翼首草; Hep3B 细胞; 侵袭; 转移; 上皮-间质转化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)03-0100-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015030100

Inhibits Human Liver Hep3B Cell Proliferation and Invasion and Metastasis of *n*-butanol Part of *Pterocephalus hookeri* in Vitro GUO Chen-xu, WU Ying-chun, ZHU Yuan-zhang, TIAN Li-li, LU Yi, HAN Cong, ZHU Guo-fu* (School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** This study sought to investigate whether *n*-butanol part of *Pterocephalus hookeri* (YSC-ZDC) *in vitro* inhibits the invasion and metastasis of human liver cancer Hep3B cells effective extraction, and its antitumor mechanisms were discussed. **Method:** Hep3B cell proliferation was assayed by MTT method, the fluorescent staining was used to observe the effect of YSC-ZDC on Hep3B cell apoptosis. Scratch test and Transwell were used to detect invasion and migration of Hep3B cell by YSC-ZDC, Western blot was used to detect related signaling pathways. **Result:** YSC-ZDC $50, 100, 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 24, 48, 72 h after treatment could obviously inhibit proliferation. $50, 100, 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ YSC-ZDC after 24 h could obviously inhibit the invasion and migration; YSC-ZDC could significantly affect the epithelial-mesenchymel transitions (EMT) related proteins. **Conclusion:** YSC-ZDC can significantly inhibit Hep3B cells proliferation and invasion and metastasis, and induce the Hep3B cell apoptosis. Its mechanism may be related to EMT.

[Key words] *Pterocephalus hookeri*; Hep3B cells; invasion; metastasis; epithelial-mesenchymel transitions

翼首草系川续断科翼首花属植物匙叶翼首花的全草^[1],为藏族常用药材,藏语名为榜孜毒乌、榜

孜夺吾等,藏医认为翼首草性寒、味苦、有小毒,具有清热解毒、祛风湿、止痛的作用。《晶珠本草》所

[收稿日期] 20140812(013)

[基金项目] 国家中医药管理局项目(A1-Z1401010504);上海市博士点基金(K130204)

[第一作者] 郭晨旭,在读博士,从事抗肿瘤中药药理药效研究, Tel:13816383842, E-mail:13632308419@163.com

[通讯作者] *朱国福,博士,教授,从事中医药教学及抗肿瘤中药研究工作, Tel:021-51322209, E-mail:gfz1998@163.com

记载“翼首草解毒,治瘟病时疫,治风湿性关节炎、肠绞痛^[2]”。目前在对翼首草药理学研究中,大多数都集中在抗炎、镇痛及抗类风湿性关节炎等方面。药理学研究表明,翼首草的主要化学成分为三萜皂苷类及环烯醚萜苷类化合物,而这 2 种化合物均有显著抗肿瘤功效^[3-6],是几年来肿瘤领域研究热点之一,本课题组在前期研究工作中发现翼首草总皂苷部位对多种肿瘤细胞具有较明显的抑制增殖作用^[7],进一步对翼首草正丁醇部位研究发现,对胃癌 SGC-7901,肝癌 Hep3B,食管癌 Eca-109 及肺癌 A549 多种肿瘤细胞株均有抑制作用。目前,关于翼首草抗肿瘤的研究鲜有报道。本研究以人肝癌 Hep3B 细胞株为研究对象,观察翼首草正丁醇部位提取物(YSC-ZDC)对其抑制、迁移和侵袭能力的影响,并对 YSC-ZDC 诱导的 Hep3B 细胞上皮间质转化(EMT)过程中上皮标志物 E-钙黏素(E-cadherin)蛋白的表达和间质标志物 N-钙黏素(N-cadherin)蛋白及纤维连接蛋白(FN)的表达进行初步机制探讨,以明确 YSC-ZDC 抑制 Hep3B 细胞侵袭转移的可能作用机制。

1 材料

1.1 药材鉴定及提取物制备 翼首草 *Pterocephalus hookeri* 原药材采集于青海省,经上海中医药大学药教研室鉴定后,将翼首草粗粉分别通过 80% 乙醇回流提取 3 次每次 1 h,减压回收乙醇,得浓缩液,分别石油醚、三氯甲烷、水饱和和正丁醇依次萃取,对正丁醇萃取部位进行以下的药理实验。

1.2 细胞株 人肝癌 Hep3B 细胞株,购自中国科学院生物化学与细胞生物学研究所。

1.3 试剂与仪器 翼首草正丁醇部位提取物(YSC-ZDC)由上海中医药大学中药化学实验室提取制备;胎牛血清(Gibco 批号 100099-141)、磷酸盐缓冲液、DMEM 培养液(Thermo 公司,SH30243.01);硫酸长春新碱(VCR)四甲基偶氮唑盐(MTT 进口分装)、二甲基亚砷(Sigma 公司,进口分装);Transwell 小室(Corning 公司,批号 3413),人工重构基底膜胶(Matrigel,美国 BD 公司,批号 356234);E-cadherin, N-cadherin 一抗(Epitomics 进口分装),PVDF 膜(millipore 公司),荧光二抗(Odyssey 进口分装),IX71 型相差显微镜(日本 Olympus),3111 型二氧化碳培养箱(美国 Thermo 公司),SynergyHT 型全波长酶标仪(美国 BioTek 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 人肝癌 Hep3B 细胞培养在含 10%

胎牛血清,青霉素、链霉素(各 $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$),pH 7.4 的 DMEM 养液中,置 $37 \text{ }^\circ\text{C}$,5% CO_2 细胞培养箱内培养。隔天换液,2~3 d 传代 1 次。

2.2 对细胞增殖的影响 取生长状态良好的人肝癌 Hep3B 细胞,消化收集后将细胞悬液密度调整为 $4 \times 10^4/\text{mL}$,接种于 96 孔细胞培养板,每孔 $100 \mu\text{L}$ 。待细胞贴壁后,分组处理细胞,分别为对照组(加入 2.1 中的 DMEM 培养液),翼首草正丁醇部位提取物 12.5,25,50,100,200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组,长春新碱 0.1,0.3,1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组。加入不同质量浓度药物,于培养箱中继续培养 24,48,72 h。每孔加入 $10 \mu\text{L}$ 的 MTT 溶液,于培养箱孵育 4 h,吸去上层清液后每孔加入 $150 \mu\text{L}$ 的 DMSO,于酶标仪测定 490 nm 波长处的吸光度(A),实验重复 3 次。

$$\text{抑制率} = (1 - \text{用组平均 } A / \text{阴性组平均 } A) \times 100\%$$

2.3 观察 Hep3B 细胞凋亡形态 细胞培养同 MTT 实验。将人肝癌 Hep3B 细胞以 2×10^5 个/孔接种于 24 孔板中,加入不同质量浓度 YSC-ZDC 培养 24,48,72 h 后,加入 4% 多聚甲醛 1 mL,固定 10 min。PBS 荡洗 2 次,加入 heochst 33258 染液,避光孵育 10 min。在荧光显微镜下观察并拍照。

2.4 细胞迁移能力检测(划痕实验) 细胞培养及药物加入方法同 2.2 项下。取对数生长期的人肝癌 Hep3B 细胞,调整细胞密度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$,均匀接种于 6 孔板内,待细胞贴壁完全后,用移液器尖在每个孔内划一道痕,加入药物,每组均设 3 个复孔,分别于 0,24,48 h 后观察并照相。

2.5 细胞迁移能力检测(Transwell 小室实验) 选取对数生长期的 Hep3B 细胞,用无血清的细胞培养液调整细胞密度为 5×10^4 个/孔,按照分组情况上室分别加入含各质量浓度药物的细胞悬液 $200 \mu\text{L}$ (无血清),下室加入含 10% 血清的 DMEM 培养液 $500 \mu\text{L}$,每组 3 个复孔,放置于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$,5% CO_2 的培养箱培养 24 h 后,取出 Transwell 小室,用棉签轻轻擦除上室上表面未穿过的细胞,用 95% 乙醇固定 20 min,用 0.1% 结晶紫染液染色 30 min,用双蒸水清洗小室下表面。晾干后在倒置显微镜下($\times 200$ 倍)随机取 3 个视野,拍照。取细胞穿膜数,取平均数表示细胞迁移能力。

$$\text{迁移抑制率} = (1 - \text{实验组平均迁移细胞数} / \text{对照组平均迁移细胞数}) \times 100\%$$

2.6 细胞侵袭性测定 首次使用人工基质胶 Matrigel 前,在超净台上无菌分装,使用前于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中自然融化;用无血清的 DMEM 培养液以 1:3 的

比例稀释人工基质胶;取 50 μL Matrigel 稀释液加入到 Transwell 侵袭小室中,超净台内风干过夜。实验方法同 Transwell 迁移实验。取细胞穿膜数,平均数表示细胞侵袭能力。

$$\text{侵袭抑制率} = (1 - \text{实验组平均侵袭细胞数} / \text{对照组平均侵袭细胞数}) \times 100\%$$

2.7 Hep3B 细胞 EMT 相关蛋白表达 取对数期 Hep3B 细胞,加入不同终质量浓度 YSC-ZDC (50, 100, 200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 或者 DMEM 培养基作用 48 h 后,用蛋白提取试剂盒提取总蛋白,用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,转移至 PVDF 膜后,用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h,一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,加入红外线标记的二

抗,避光反应 1 h,用红外荧光扫描系统进行检测。

2.8 统计方法 实验结果采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组均数比较采用 t 检验,不同时间点各组均数比较采用重复测量方差分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 YSC-ZDC 对 Hep3B 细胞增殖的抑制作用 不同质量浓度 YSC-ZDC 组均能有效抑制 Hep3B 细胞的增殖($P < 0.05$),且随着药物质量浓度的增加抑制作用增强,提示 YSC-ZDC 对 Hep3B 细胞的增殖抑制作用具有浓度依赖性。见表 1。

表 1 YSC-ZDC 对 Hep3B 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

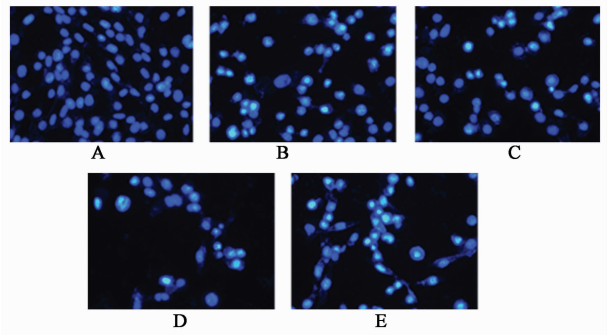
Table 1 Effect of YSC-ZDC on proliferation of Hep3B cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

作用时间 /h	组别	质量浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	细胞增殖 / A	增殖抑制率 /%	IC_{50} / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
24	对照	-	0.605 \pm 0.030	-	-
	YSC-ZDC	12.5	0.555 \pm 0.032	8.33 \pm 0.78	110.7 \pm 0.16
		25	0.535 \pm 0.040	11.62 \pm 2.21	
		50	0.484 \pm 0.024 ²⁾	39.96 \pm 0.97	
		100	0.320 \pm 0.017 ²⁾	47.16 \pm 0.61	
		200	0.250 \pm 0.008 ²⁾	78.70 \pm 1.45	
	长春新碱	0.1	0.623 \pm 0.015 ²⁾	35.57 \pm 0.86	0.57 \pm 0.18
		0.3	0.342 \pm 0.055	43.52 \pm 1.28	
		1.0	0.262 \pm 0.038	80.38 \pm 1.31	
	48	对照	-	1.196 \pm 0.040	-
YSC-ZDC		12.5	1.030 \pm 0.027	13.90 \pm 0.69	95.24 \pm 0.03
		25	0.943 \pm 0.033	21.13 \pm 2.83	
		50	0.801 \pm 0.033 ¹⁾	33.09 \pm 1.58	
		100	0.541 \pm 0.045 ¹⁾	54.85 \pm 2.66	
		200	0.289 \pm 0.018 ¹⁾	75.82 \pm 1.44	
长春新碱		0.1	0.242 \pm 0.034	36.97 \pm 1.31	0.32 \pm 0.15
		0.3	0.343 \pm 0.075 ¹⁾	65.46 \pm 1.42	
		1.0	0.343 \pm 0.081 ¹⁾	85.38 \pm 1.37	
72		对照	-	1.261 \pm 0.170	-
	YSC-ZDC	12.5	1.075 \pm 0.119	14.55 \pm 2.48	84.82 \pm 0.21
		25	0.898 \pm 0.106	28.71 \pm 1.18	
		50	0.754 \pm 0.074 ¹⁾	39.98 \pm 2.20	
		100	0.540 \pm 0.044 ¹⁾	57.01 \pm 2.22	
		200	0.331 \pm 0.032 ¹⁾	75.29 \pm 0.97	
	长春新碱	0.1	0.831 \pm 0.015 ¹⁾	35.67 \pm 1.26	0.31 \pm 0.24
		0.3	0.561 \pm 0.162 ¹⁾	56.32 \pm 0.17	
		1.0	0.258 \pm 0.174 ¹⁾	92.32 \pm 0.13	

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 细胞凋亡形态学观察 Hoechst 染色后的 Hep3B 细胞,经荧光显微镜观察,阴性组细胞核内 DNA 分布相对均匀,核呈圆或卵圆形,无固缩,故在视野中呈均匀微弱蓝色;而用药组部分细胞发生凋亡,细胞核着色深,呈致密浓染,核固缩、变形,出现凋亡小体特征, YSC-ZDC 中、高浓度组阳性对照药硫酸长春新碱 VCR($0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 凋亡的 Hep3B 细胞显著增多。见图 1。

3.3 YSC-ZDC 对 Hep3B 细胞迁移能力的影响 利用不同浓度的 YSC-ZDC 处理 Hep3B 细胞,于 0,24,48 h 分别观察细胞向划痕区域迁移的程度,结果发现, YSC-ZDC 可以明显抑制 Hep3B 细胞向划痕区域的迁移。随着时间推移,药物浓度加大, Hep3B 细胞迁移受抑制的程度就越大(见图 2),提示 YSC-ZDC 可以明显减弱肝癌细胞 Hep3B 的迁移能力。

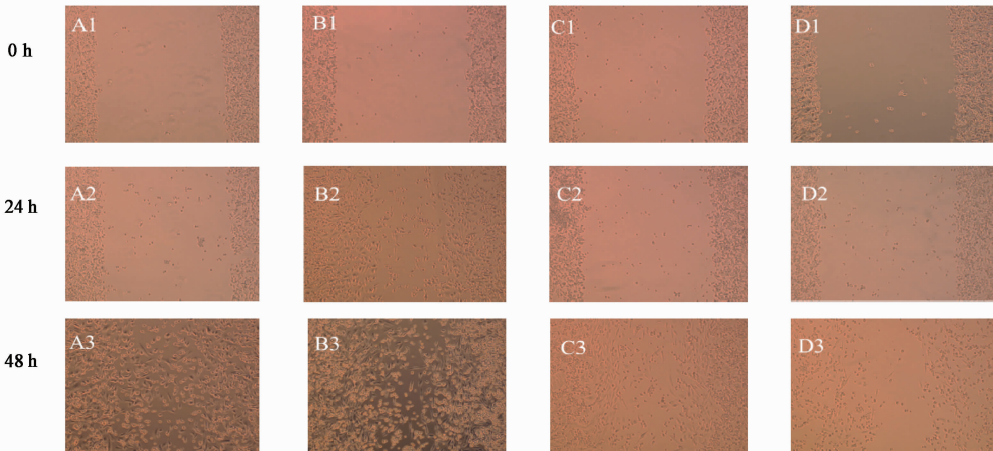


A. 空白对照组; B. YSC: $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组; C. YSC: $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组; D. YSC: $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组; E. VCR $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组

图 1 Hep3B 细胞形态学变(荧光染色, $\times 200$)

Fig.1 Morphological changes of Hep3B cells were observed (by fluorescent staining, $\times 200$)

3.4 Transwell 小室迁移实验 经不同浓度 YSC-ZDC 处理 Hep3B 细胞 24 h 后,穿过小室基底膜的



A1 ~ A3. 空白对照 0, 24, 48 h 组; B1 ~ B3. YSC-ZDC $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 0, 24, 48 h 组; C1 ~ C3. YSC-ZDC $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 0, 24, 48 h 组; D1 ~ D3. YSC-ZDC $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 0, 24, 48 h 组

图 2 YSC-ZDC 对 Hep3B 细胞迁移能力的影响(细胞划痕损伤实验, $\times 40$)

Fig.2 Hep3B cell migration ability affect by YSC-ZDC (cell scratch wound assays, $\times 40$)

细胞数量明显减少,呈浓度依赖性,穿过的细胞与对照组细胞相比,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。迁移实验中,对照组穿膜细胞个数为(527 ± 9)个,与之相比,用药各组穿膜细胞个数明显减少,呈浓度依赖性; YSC-ZDC, 3 个质量浓度组的穿膜细胞数为(322 ± 21), (178 ± 17), (84 ± 19)个,迁移抑制率分别为 35.32%, 62.89%, 83.75%, 对肝癌 Hep3B 细胞的迁移有明显抑制作用($P < 0.05$)。

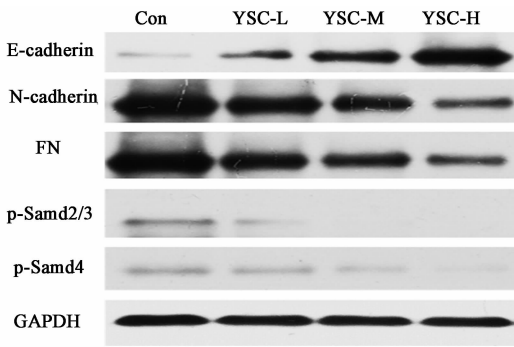
3.5 Transwell 小室侵袭实验 侵袭实验中,对照组穿膜细胞数为(489 ± 12)个,与之相比,用药各组穿膜细胞数明显减少,呈浓度依赖性; YSC-ZDC 3 个质量浓度组的穿膜细胞个数为(172 ± 13), ($128 \pm$

15), (33 ± 9)个,各组侵袭抑制率分别为 32.46%, 49.62%, 88.37%, 对肝癌 Hep3B 细胞侵袭有明显抑制作用($P < 0.05$)。

3.6 对 Hep3B 细胞侵袭转移相关蛋白的影响 经 YSC-ZDC 处理过的 Hep3B 细胞, E-cadherin 表达上调, N-cadherin 和 FN 的表达均下降,磷酸化 Samd2/3, Smad4 表达明显下调。见图 3。

4 讨论

YSC-ZDC 是从藏族常用药材匙叶翼首草全草提取的有效部位,前期实验室研究发现,该药对多种肿瘤细胞有明显的抑制增殖作用。该有效部位含有双环烯醚萜苷类化合物和五环三萜皂苷类化合物,



Con. 空白对照组; YSC-L. 50 mg · L⁻¹ 组; YSC-M. 100 mg · L⁻¹ 组; YSC-H. 200 mg · L⁻¹ 组

图 3 不同浓度 YSC-ZDC 对 Hep3B 细胞的 EMT 相关蛋白表达的影响

Fig. 3 expression of EMT related protein by YSC-ZDC on Hep3B

具有多方面的抗肿瘤活性,能抑制肿瘤细胞的增殖,诱导 Hep3B 细胞凋亡小体的出现,抑制 Hep3B 细胞侵袭和迁移,经 Western blot 检测,该提取物对 EMT 相关蛋白有影响,考虑其作用机制与其影响 TGF- β /smad 信号通路的活性相关。目前对翼首草抗肿瘤作用的研究报道甚少,因此可预见该药有很大的研究空间和潜力。

EMT 是一种基本的生理病理现象,参与胚胎的形成、发育和肿瘤的侵袭转移,EMT 在肿瘤侵袭转移过程中发挥了重要作用,EMT 的概念是由 Greenberg 和 Hay 在 1982 年提出^[8],是指在特定的生理和病理情况下,具有极性的上皮细胞向间充质细胞转化的现象。在肿瘤细胞侵袭及转移灶的形成的过程中,只要能阻断该过程中的任一或者多个环节,就有可能抑制肿瘤细胞的侵袭转移。

在细胞发生 EMT 过程后,其形态和结构特征发生变化,细胞极性丧失,细胞间的紧密连接蛋白和黏附分子重构和易位、细胞骨架蛋白重排,导致细胞的运动和迁移的能力增加,从而在胚胎发育、组织重塑和修复过程中发挥着重要作用^[9-10]。

目前有关研究表明 EMT 参与了多种肿瘤侵袭转移的发生,如卵巢癌、肝癌及乳腺癌等,EMT 被认为是导致肿瘤细胞发生浸润及远处转移的重要因素^[11-12]。

EMT 的发生是由微环境中的细胞因子作用于细胞膜上受体,诱导多种细胞信号通路的改变,最终导致相关基因表达的改变,同时细胞表型发生改变,上皮表型标志物如 E-cadherin, α -连环素, β -连环素, γ -连环素蛋白表达下调,而获得的间质表型标志物如 N-cadherin, FN 等多种间充质细胞标志蛋白表达

上调^[13-14],最终使肿瘤细胞获得浸润、迁移、侵袭的能力并远处转移到其他部位,并再次通过 MET (mesenchymal epithelial transition, 间质上皮转化) 种植并形成新的转移灶^[15]。目前乳腺癌、食管癌、直肠癌^[16-18] 临床研究表明,随着肿瘤恶性程度的增高,复发和转移的速度越快, N-cadherin 表达就越强。有实验研究发现, N-cadherin 表达阴性的肿瘤细胞转染 N-cadherin 之后,浸润转移能力显著增强;同时检测到 E-cadherin 蛋白表达下降,其介导的细胞黏附作用减弱^[19-23]。间质 FN 表达增多也被认为是促进肿瘤细胞浸润、转移的指标之一^[24]。综上所述, EMT 是导致肿瘤细胞浸润转移的主要原因,它与 TGF- β /Smad 等信号通路介导发生有密切关系,在肿瘤细胞发生侵袭和转移过程中 EMT 相关蛋白表达发生了变化,如 E-cadherin, N-cadherin, FN 等均有显著变化。

本文研究表明, YSC-ZDC 能从增殖、迁移和侵袭等多个环节抑制 Hep3B 细胞的侵袭和转移能力,并能诱导 Hep3B 细胞凋亡。通过下调上皮表型标志物 N-cadherin 的表达,及上调间质表型标志物 E-cadherin 的表达,其作用机制可能与抑制 EMT 的发生有关。而该提取物能抑制磷酸化 Smad2/3, Smad4 的活性,考虑其可能与 TGF- β 信号传导通路有关。由此可见, YSC-ZDC 是一种较好的抗肿瘤侵袭转移的药物,由于时间和经费限制,动物模型实验和毒理试验有待进一步验证翼首草正丁醇提取物的抗肿瘤作用。

[参考文献]

- [1] 青海省药品检验所. 青海省藏医药研究所. 中国藏药. 第一卷 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1996: 170-171.
- [2] 帝玛尔·丹增彭措, 毛继祖. 晶珠本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [3] Wu Y C, Guo C X, Zhu G F, et al. Four new bis-iridoids isolated from the traditional Tibetan herb *Pterocephalus hookeri* [J]. *Fitoterapia*, 2014, 98 (7): 104-109.
- [4] Wu X H, Wang S X, Zhou S Y. The effect of SNMC on proliferation and apoptosis in liver cancer cell [J]. *Chin J Pract Chin Modern Med*, 2005, 18: 267-269.
- [5] Zou K, Zhao Y Y, Zhang R Y. A Cytotoxic saponin from *Alba julbrssn* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54 (8): 1211-1212.
- [6] Wu Y C, Zhu G F. Bis-iridoid and lignans from

- traditional Tibetan herb *Pterocephalus hookeri* [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2014, 56(5):209-212.
- [7] 雷旭东,朱国福,崔文霞,等. 翼首草总皂苷对体外培养的肿瘤细胞增殖的影响[J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(6):1518-1520.
- [8] Greenbu G, Hay E D. Epithelia suspended in collagen gel can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cell [J]. *Cell Biol*, 1982, 95:333-339.
- [9] 姚婵,来茂德. 上皮间质转化(EMT)及其分子机制[J]. *国际遗传学杂志*, 2006, 29(4):290-294.
- [10] Parkin D M, Bray F B, Pisani P. Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2005, 55(2):74-108.
- [11] Dorudis, Hanbyam, Poulson R, et al. Level of expression of E-cadherin mRNA in colorectal cancer correlated with clinical outcome [J]. *Br J Cancer*, 1995, 71:614-620.
- [12] Guarino M, Rubino B, Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology [J]. *Pathology*, 2007, 39(3):305-318.
- [13] Yang J, Mani S A, Donaher J L. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis [J]. *Cell*, 2004, 117(67):927-939.
- [14] Bagnabo A, Rosano L. Epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer progression; a crucial role for the endothelin axis [J]. *Cell Tissues Organs*, 2007, 185(1/3):85-94.
- [15] Becker K F, Rosivatz E, Blechschmidt K. Analysis of the E-cadherin repressor snail in primary human cancers [J]. *Cell Tissues Organs*, 2007, 185(13):204-212.
- [16] Hanza R B, Philips Gr, Qiao R F, et al. Exogenous expression of N-cadherin in breast cancer cells induces cell migration, invasion and metastasis [J]. *J Cell Biol*, 2000, 148:779-790.
- [17] 佟金学,王智勇,徐文怀. N-cadherin, E-cadherin 在直肠癌中的表达及临床意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2005, 15(8):1115-1117.
- [18] Jae-Beom K, Shabidul I, Yong J K, et al. N-cadherin extracellular repeat 4 mediates epithelial to mesenchymal transition and increased motility [J]. *J Cell Biol*, 2000, 151(6):1193-1205.
- [19] Niemanmt, Prodoff R S, Johnson K R, et al. N-cadherin promotes motility in human breast cancer cells regardless of their E-cadherin expression [J]. *J Cell Biol*, 1999, 147:631-644.
- [20] 汪泳,刘昕,朱任之,等. E-钙黏附素和基质金属蛋白酶的表达与胃癌侵袭、转移的关系 [J]. *中国现代医学杂志*, 2004, 14(1):69-71.
- [21] Cavalaro U, Sch Affh Auser B, Ch Ristofori G. Cadherins and the tumor progression; is it all in a switch [J]. *Cancer Lett*, 2002, 176:123-128.
- [22] Yoshinaga K, Inoue H, Utsunomiya T, et al. N-cadherin is regulated by activin A and associated with tumor aggressiveness in esophageal carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(17):5702-5707.
- [23] Hazan R B, Kang L, Whooley B P, et al. N-cadherin promotes adhesion between invasive breast cancer cells and the stroma [J]. *Cell Adhes Commun*, 1997, 4(6):399-411.
- [24] 曹志伟,施磊,李笑天,等. nm23 基因产物、细胞外基质抗原表达与喉癌颈淋巴结转移关系的研究 [J]. *山东大学基础医学院学报*, 2005, 19(4):205-208.

[责任编辑 聂淑琴]