

常春藤皂苷元对肠癌 SW480 细胞上皮-间质转化(EMT)及侵袭的影响

陈彦¹, 奚松阳¹, 滕钰浩¹, 李洁玘¹, 张瑛瑛¹, 邹玺², 周锦勇², 吴坚², 王瑞平^{2*}

(1. 南京中医药大学附属医院, 南京 210029; 2. 江苏省中医院, 南京 210029)

[摘要] 目的:探讨常春藤皂苷元(HG)通过调控上皮-间质转化(EMT)途径抑制大肠癌侵袭转移的机制。方法:以肠癌细胞 SW480 细胞为研究对象,不同质量浓度 HG 干预转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) 诱导的 SW480 细胞,作用 24 h 后噻唑蓝(MTT)法检测细胞增殖能力。转移小室(Transwell)实验检测细胞侵袭能力。实时荧光定量-聚合酶链式反应(qPCR)和蛋白质免疫印迹(Western blot)法分别检测 EMT 标志物 E-钙黏蛋白(E-cadherin), N-钙黏蛋白(N-cadherin), 波形蛋白(Vimentin), 蜗牛同源物 1(果蝇)样 1 蛋白(Snail)及侵袭转移标志分子信号传导蛋白和转录激活物(STAT3), 基质金属蛋白酶-9(MMP-9), MMP-14, 伴有 Kazal 域的富含半胱氨酸的逆转诱导蛋白(RECK)表达变化。结果:HG 可抑制 TGF- β_1 诱导的肠癌 SW480 细胞增殖、干预 EMT 和降低侵袭能力,降低 EMT 标志分子 N-cadherin, Vimentin, Snail 及侵袭转移标志分子 STAT3, MMP-9, MMP-14 表达,增强 E-cadherin, RECK 的表达,与 TGF- β_1 组比较均具有统计学差异($P < 0.05$)。结论:HG 可通过抑制 EMT 途径影响大肠癌细胞 SW480 侵袭转移。

[关键词] 常春藤皂苷元; 上皮-间质转化; 侵袭; 大肠癌

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)12-0133-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016120133

Effects of Hederagenin in Suppressing Epithelial-mesenchymal Transition and Invasion of Colon Cancer Cells SW480

CHEN Yan¹, XI Song-yang¹, TENG Yu-hao¹, LI Jie-pin¹, ZHANG Ying-ying¹,
ZOU Xi², ZHOU Jin-yong², WU Jian², WANG Rui-ping^{2*}

(1. *Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;*

2. Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate whether hederagenin (HG) could inhibit the invasion and metastasis of colorectal cancer by epithelial-mesenchymal transition (EMT) pathway. **Method:** MTT was used to determine the proliferation of transforming growth factor (TGF)- β_1 -induced colorectal cancer cells SW480 with different doses of HG treating for 24 h. Transwell assay was used to determine the inhibitory effects of HG on cell invasion in SW480 cells. Western blot and real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qPCR) assay were used to observe the expressions of EMT markers such as E-cadherin, N-cadherin, Vimentin, Snail, and invasion and metastasis markers such as signal transducer and activator of transcription (STAT)-3, matrix metalloproteinase (MMP)-9, reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motif (RECK) and MMP-14. **Result:** Here we found that HG inhibited the proliferation of SW480 cells which induced by TGF- β_1 , influenced EMT and reduced the invasion ability. Furthermore, HG reduced the expressions of EMT markers including N-

[收稿日期] 20150611(017)

[基金项目] 国家中医药管理局项目(JDZX2012087);江苏省中医药重点学科建设项目(JS1305);江苏省中医药领军人才项目(LJ200908)

[第一作者] 陈彦, 硕士, 从事中西医结合抗肿瘤的基础及临床研究, Tel:18351893127, E-mail:2831646936@qq.com

[通讯作者] *王瑞平, 博士, 教授, 博士生导师, 主任医师, 从事肿瘤的中西医结合治疗, Tel:13815883181, E-mail:wrp61@163.com

cadherin, Vimentin, Snail and invasion and metastasis markers including STAT-3, MMP-9, MMP-14, enhanced the expressions of E-cadherin and RECK ($P < 0.05$). **Conclusion:** HG inhibited the invasion and metastasis of SW480 cells by influencing EMT pathway.

[**Key words**] hederagenin; epithelial-mesenchymal transition; invasion; colon cancer

肠癌是目前人类常见的消化道恶性肿瘤之一,严重威胁着人们的身体健康,最新统计结果显示,发达国家的大肠癌发病率及死亡率居恶性肿瘤第 2 位^[1]。晚期大肠癌患者的预后与侵袭转移密切相关,一旦发生转移,治疗将进入瓶颈阶段,尚无十分有效的治疗方案,严重影响患者预后。近年来,上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)成为众多研究者关注的肿瘤侵袭转移机制^[2]。目前大量研究表明,EMT 与肿瘤侵袭转移密不可分,如通过肿瘤外在细胞因子激活胞内效应分子完成细胞骨架重塑、与肿瘤微环境相互作用诱导局部组织重塑以及赋予肿瘤细胞干细胞特性从而使癌细胞获得侵袭迁移能力^[3]。因此,阻断或逆转 EMT 发生可能为限制肿瘤扩散,延长患者生命的有效方法之一。

常春藤皂苷元(hederagenin, HG)属于皂苷类,来源于五加科常春藤属植物中华常春藤,是齐墩果酸的衍生物,药理研究发现威灵仙^[4]、藤梨根^[5]等植物中均含有此成分。已有研究发现 HG 对人结肠癌细胞 LoVo 具有增殖抑制作用,并能降低其黏附、侵袭及迁移能力^[6]。基于此,本实验以大肠癌细胞 SW480 为研究对象,更进一步探讨 HG 对肠癌细胞 SW480 EMT 的相关调控抑制肿瘤侵袭转移的影响机制。

1 材料

1.1 细胞株 肠癌 SW480 细胞株购于中国科学院上海细胞生物研究所细胞库。细胞株用含 10% 小牛血清 RPMI-1640 培养基置于饱和湿度, 37 °C 5% CO₂ 恒温培养箱中培养。

1.2 药物及试剂 HG 浓度 ≥ 98% (南京宁岐医药科技有限公司, 批号 121113), 20 mg/支, 使用时 DMSO 溶解至终质量浓度为 20 g · L⁻¹, -80 °C 保存; 重组人转化生长因子-β₁ (TGF-β₁, 美国 Peprotech 公司, 批号 0611209-1), RPMI-1640 培养液 (凯基公司, 批号 20141225), 小牛血清 (杭州四季青生物工程公司, 批号 131226), 0.25% 胰酶 (美国 Gibco 公司, 批号 27250-018), 噻唑蓝 (MTT, 美国 Sigma 公司, 批号 M2128), 实时荧光定量-聚合酶链式反应 (qPCR) 逆转录试剂盒 (日本 TaKaRa 公司, 批号 AK2104), 转移小室 (Transwell, 密理博公司), PCR

引物由美国 Invitrogen 公司设计合成。E-钙黏蛋白 (E-cadherin), N-钙黏蛋白 (N-cadherin), 波形蛋白 (Vimentin), 蜗牛同源物 1 (果蝇) 样 1 蛋白 (Snail), 信号传导蛋白和转录激活物 (STAT3), 基质金属蛋白酶-9 (MMP-9), MMP-14 及伴有 Kazal 域的富含半胱氨酸的逆转诱导蛋白 (RECK) 抗体 (美国 CST 公司, 批号分别为 08/2014, 08/2014, 12/2013, 08/2014, 10/2012, 09/2014, 08/2014, 07/2012), β-肌动蛋白 (β-actin) 抗体 (美国 Sigma 公司, 批号 09/2014), 二抗兔抗、鼠抗均 (美国 CST 公司, 批号分别为 07/2014, 05/2014), 其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器 7500 型实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Life Technologies 公司), 2720 型 PCR 扩增仪 (Applied Biosystems 公司), 5417R 型冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司), Calibur 型流式细胞仪 (BD 公司), Power Poc 型蛋白质免疫印迹 (Western blot) 电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 MTT 实验 取对数生长期的 SW480 细胞, 以 8×10^4 个/mL 密度接种于 96 孔培养板, 每孔 100 μL, 每组设 6 个复孔, 孵育 24 h 后, 加入 100 μL 不同质量浓度含药培养液 (TGF-β₁ 10 μg · L⁻¹ + HG 0, 5, 10, 20, 40, 80 mg · L⁻¹), 分别孵育 12, 24, 48 h 后, 弃 96 孔板中培养液, 生理盐水冲洗后, 每孔加入 MTT 溶液 120 μL (含 RPMI-1640 100 μL 和 MTT 20 μL), 继续培养箱孵育 4 h。倾去孔中药液及培养液, 每孔加入 DMSO 150 μL, 第一孔作为调零孔, 直接加入 DMSO 150 μL, 振荡器上振荡 10 min, 使沉淀充分溶解后, 酶标仪 490 nm 处测定吸光度 A。

$$\text{抑制率} = (1 - A_{\text{药物}} / A_{\text{空白}}) \times 100\%$$

2.2 倒置显微镜观察细胞形态 当细胞生长融合达 60% ~ 80% 时, 用含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 完全培养基, 静置 24 h。细胞分为 4 组, 分别为空白组, TGF-β₁ (10 μg · L⁻¹) 组和 TGF-β₁ (10 μg · L⁻¹) 联合常春藤皂苷元 (40, 80 mg · L⁻¹) 组; 作用 24 h 后, 使用倒置显微镜观察细胞形态变化并拍照记录。

2.3 Transwell 检测 SW480 细胞侵袭能力 取对数生长期 SW480 细胞, 用无血清培养基调整细胞密度 2.5×10^5 个/mL, 按 200 μL/孔的细胞悬液接种于铺

有基质胶的 Transwell 小室上室中,加入不同质量浓度含药培养液($TGF-\beta_1$ $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + HG 0,40,80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$),下室分别加入含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基,每组设 3 个复孔,37 $^{\circ}\text{C}$ 5% CO_2 培养箱培养 24 h,取出 Transwell 小室,用棉签拭去聚碳酸酯膜上底面的细胞,PBS 漂洗 3~4 次,4% 多聚甲醛固定小室外底部的细胞,进行结晶紫染色,显微镜下观察各组细胞穿过小室基质胶的情况,统计穿过的细胞数目,取均值,实验独立重复 3 次。对比不同组间处理对 SW480 细胞侵袭能力的影响。

2.4 qPCR 检测相关基因的表达 向直径 6 cm 培养皿中接种 8×10^5 个 SW480 细胞,培养 24 h,弃原培养液,加入 5 mL 不同质量浓度含药培养液($TGF-\beta_1$ $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + HG 40,80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)或普通 RPMI-1640 培养基继续培养 24 h 后,提取细胞总 RNA,经逆转录试剂盒合成 cDNA 后进行聚合酶链反应,配制 qPCR 反应管中反应液,用 PCR 仪进行扩增反应,扩增条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 45 s,1 个循环;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火/延伸 45 s,60 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行结果分析,将不同标本的 RQ 值($RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t}$)进行比较。 $\Delta C_t =$ 目的基因 C_t 值 - 内参照基因 C_t 值,内参为甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH), $\Delta\Delta C_t =$ 实验组 ΔC_t - 空白组 ΔC_t , $RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t}$,其中空白组的数值均为 1。引物序列见表 1。

2.5 蛋白质免疫印迹(Western bolt)检测相关蛋白的表达 向直径 10 cm 培养皿中接种 2×10^6 个 SW480 细胞,培养 24 h,弃原培养液,加入 10 mL 不同浓度含药培养液($TGF-\beta_1$ $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + HG 40,80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)或普通 RPMI-1640 培养基继续培养 24 h 后,提取细胞总蛋白,以双辛丁酸(BCA)法进行蛋白定量检测上样量。上样后进行电泳分离蛋白质。电泳结束进入转膜,采用湿转法将蛋白质转膜至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,5% BSA 室温封闭 1 h,加入一抗(E-cadherin, N-cadherin, Vimentin, Snail, STAT3, MMP-9, MMP-14, RECK 1:1 000 稀释, β -actin 1:5 000 稀释),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,洗膜缓冲液(TBST)洗涤膜 5 min \times 4 遍,二抗室温孵育 1 h, TBST 洗涤膜 5 min \times 3 遍, TBS 洗涤膜 5 min \times 1 遍,加适量增强型化学发光试剂(ECL)显色液,化学发光法显色成像,检测相关蛋白表达。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 19.0 统计分析软件处理,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据间的比较采用 Oneway-ANOVA 分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

基因	引物序列(5'-3')	片段长度/bp
Vimentin	上游 GGACCAGCTAACCAACGACA	178
	下游 AAGGTCAAGACGTGCCAGAG	
E-cadherin	上游 TCATGAGTGTCGCCGGTAT	240
	下游 TCTTGAAGCGATTGCCCCAT	
N-cadherin	上游 ATGAAAGACCCATCCAGC	219
	下游 CCTGCTCACCACCACTA	
Snail	上游 AAGATGCACATCCGAAGCCA	237
	下游 CATTCGGGAGAAGGTCCGAG	
RECK	上游 GCAGGGGAAGTTGGTTGTTA	175
	下游 TGCCAGCAAAAACAAGAACAG	
STAT3	上游 CCTGAAGCTGACCCAGGTAG	133
	下游 TTCCAAACTGCATCAATGAATC	
MMP-9	上游 CGACGTCTTCCAGTACCGAG	220
	下游 TTGTATCCGGCAAACCTGGCT	
MMP-14	上游 GGGTGAGGAATAACCAAGTGAT	239
	下游 ATCCAGAAGAGAGCAGCATC	
GAPDH	上游 AGCCACATCGCTCAGACAC	66
	下游 GCCCAATACGACCAATCC	

3 结果

3.1 对 SW480 细胞增殖的影响 结果表明不同质量浓度($TGF-\beta_1$ $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + HG 0,40,80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的常春藤皂苷元分别作用 SW480 细胞 12,24,48 h,与空白组比较,实验组随着给药浓度的增大、药物作用时间的延长,其对细胞的抑制率也显著增大。见表 2。

表 2 HG 对 SW480 细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of HG on viability of SW480 cells($\bar{x} \pm s, n = 6$) %

组别	剂量 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	抑制率		
		12 h	24 h	48 h
空白	-	0	0	0
$TGF-\beta_1$	-	$0.40 \pm 0.04^{1)}$	$0.41 \pm 0.02^{1)}$	0.43 ± 0.030
HG	10	$9.10 \pm 1.14^{1,2)}$	$14.56 \pm 1.71^{1,2)}$	$20.30 \pm 2.21^{1,2)}$
	20	$14.30 \pm 2.99^{1,2)}$	$26.72 \pm 2.03^{1,2)}$	$40.49 \pm 1.54^{1,2)}$
	40	$28.76 \pm 1.90^{1,2)}$	$39.94 \pm 1.18^{1,2)}$	$59.75 \pm 1.79^{1,2)}$
	80	$33.31 \pm 2.01^{1,2)}$	$56.04 \pm 1.53^{1,2)}$	$70.53 \pm 1.81^{1,2)}$

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,与 $TGF-\beta_1$ 组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 3,图 3,4 同)。

3.2 对 SW480 细胞形态变化的影响 倒置相差显微镜观察,与空白组比较, $TGF-\beta_1$ 单独诱导组 SW480 细胞呈现典型的间质化表型,拉长增大呈梭

形,细胞之间间隙加大,在形态上趋向于成纤维细胞,40,80 mg·L⁻¹ 剂量常春藤干预组细胞均显示出非典型上皮表型,细胞形态逐渐接近正常 SW480 形态,且视野内细胞数目亦减少,并呈明显剂量效应关系。见图 1。

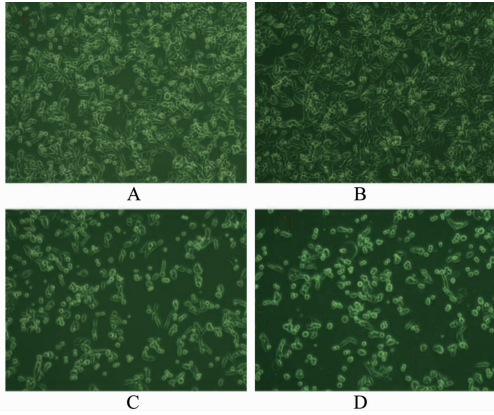


图 1 HG 对 SW480 细胞形态变化的影响 (×200)
A. 空白组; B. TGF-β₁ 组; C. HG 40 mg·L⁻¹ 组; D. HG 80 mg·L⁻¹ 组 (图 2 同)

图 1 HG 对 SW480 细胞形态变化的影响 (×200)

Fig. 1 Effects of HG on morphological alterations of SW480 cells (×200)

3.3 对 TGF-β₁ 诱导的 SW480 细胞侵袭能力的影响 与空白组比较, TGF-β₁ 组穿过小室的细胞数明显增加, 与 TGF-β₁ 组、空白组比较, HG 干预组穿过小室的细胞数明显减少, 且 HG 剂量越大, 穿过小室的细胞数越少。提示 HG 可降低 SW480 细胞的侵袭能力。见图 2, 表 3。

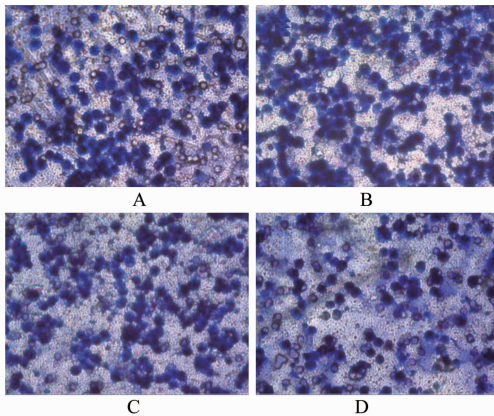


图 2 HG 对 TGF-β₁ 诱导的 SW480 细胞侵袭能力的影响 (Transwell, ×200)

Fig. 2 Effects of HG on cell invasion and migration of SW480 cells (Transwell, ×200)

3.4 对 SW480 细胞 EMT, 侵袭相关基因及蛋白的影响 TGF-β₁ 可诱导 SW480 细胞 EMT, 侵袭相关基因及蛋白的表达, 与空白组比较, N-cadherin, Vimentin, Snail, STAT3, MMP-9, MMP-14 表达升高,

表 3 HG 对 TGF-β₁ 诱导的 SW480 细胞侵袭能力的影响 (x̄ ± s, n = 6)

Table 3 Effects of HG on cell invasion and migration of SW480 cells (x̄ ± s, n = 6)

组别	剂量/mg·L ⁻¹	穿膜细胞数
空白	-	109.67 ± 2.52
TGF-β ₁	-	162.33 ± 3.06 ¹⁾
HG	40	118.00 ± 2.65 ^{1,2)}
	80	66.33 ± 1.53 ^{1,2)}

E-cadherin, RECK 表达降低 (P < 0.05)。与 TGF-β₁ 组比较, HG 组随着 HG 的浓度升高, N-cadherin, Vimentin, Snail, STAT3, MMP-9, MMP-14 表达降低, E-cadherin, RECK 表达升高 (P < 0.05)。见图 3, 4。

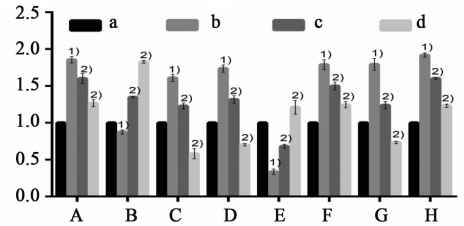


图 3 HG 对 SW480 相关基因的 mRNA 水平的影响 (x̄ ± s, n = 6)
a. TGF-β₁ 组; b. HG 40 mg·L⁻¹ 组; c. HG 80 mg·L⁻¹ 组; d. 空白组; A. STAT3; B. RECK; C. MMP-9; D. MMP-14; E. E-cadherin; F. N-cadherin; G. Vimentin; H. Snail

图 3 HG 对 SW480 相关基因的 mRNA 水平的影响 (x̄ ± s, n = 6)
Fig. 3 Effects of HG on mRNA levels of related genes in SW480 cells (x̄ ± s, n = 6)

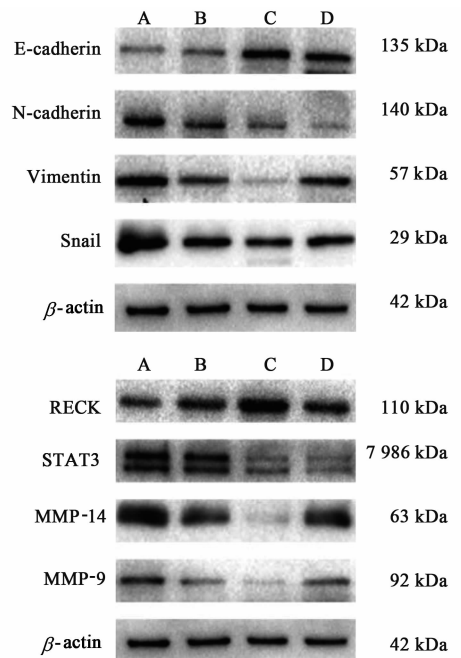


图 4 HG 对 SW480 相关蛋白表达的影响
A. TGF-β₁ 组; B. HG 40 mg·L⁻¹ 组; C. HG 80 mg·L⁻¹ 组; D. 空白组

Fig. 4 Effects of HG on expressions of proteins in SW480 cells

4 讨论

EMT 是指在特定的生理、病理情况下,如胚胎发育、组织发生、多种慢性疾病发病过程及肿瘤浸润转移中^[7],细胞由上皮表型向间叶表型转变的过程。目前普遍认为,EMT 参与恶性上皮源性肿瘤细胞侵袭转移过程中发挥了重要作用,是诱发肿瘤转移的关键因素^[8]。大量文献证实,EMT 参与了结肠癌、乳腺癌、卵巢癌等多种恶性肿瘤的侵袭转移过程^[9-10]。EMT 过程以 E-Cadherin, α -catenin, 角蛋白, 黏蛋白等上皮组织特有的指标蛋白表达降低甚至丧失,以及 Vimentin, N-Cadherin 和 Fibronectin 等间叶组织特有的指标蛋白表达上调为主要特征^[11]。其中 E-cadherin 上皮标志物对维持上皮细胞特性起着关键作用。E-cadherin 表达下调,是 EMT 发生过程中至关重要的一步^[12]。目前 EMT 参与肿瘤转移的证据得到大量证实,因此,逆转 EMT 可作为肠癌临床治疗的有效手段。一些研究显示,某些天然作物提取物可通过调控相关信号通路逆转恶性肿瘤 EMT 过程^[13-15]。EMT 发生机制相当复杂,TGF- β_1 作为 TGF- β 家族重要成员,已被证实为 EMT 的主要诱导剂^[16-17]。本实验采用 TGF- β_1 刺激人肠癌细胞 SW480 发生 EMT,并经 HG 作用 24 后,显微镜下可明显观察到,较空白组,HG 组细胞大部呈不典型上皮细胞形态,细胞间连接趋于紧密;Western blot, qPCR 结果显示 HG 可上调上皮细胞标记分子 E-Cadherin 表达;下调间质细胞标记物 N-Cadherin, Vimentin 等表达。

MMPs 是一组与肿瘤细胞侵袭、细胞外基质降解等过程密切相关的 Zn^{2+} 依赖性内肽酶。近年来研究显示,MMP-14 在食管癌^[18]、乳腺癌^[19]、胃癌^[20]、肝癌^[21] 等肿瘤中表达上调,并与肿瘤的分期、有无淋巴结转移等特性相关。目前认为,MMP-14 在肿瘤中的过表达,反应出肿瘤更高的恶性生物学行为,并成为恶性肿瘤不良预后的指标。近年来研究发现抑癌基因 RECK 和癌基因 STAT3 在肿瘤的侵袭转移中发挥了重要作用,两者均可调控细胞基质的蛋白水解以及血管生成。RECK 基因是一种基质金属蛋白酶抑制剂,它在正常细胞组织中均表达,在肿瘤组织中表达缺失,进而抑制肿瘤细胞的跨膜、转运。研究表明,将 RECK 基因转移至肿瘤细胞中后,其侵袭转移能力明显被抑制^[22-23]。近年来发现,STAT-3 是一种激活后进入细胞核与靶基因 DNA 启动子序列片段结合,调控相关基因表达,产生生物学效应的转录因子。STAT3 不仅在胚胎发育和正常

组织细胞功能中有重要作用。同时在其多种肿瘤细胞中亦有异常表达及活化,从而促进肿瘤发生发展^[24-27]。一些体外实验证实 STAT3 对肿瘤细胞侵袭能力有重要影响^[28-29]。本实验中观察到,TGF- β_1 可增强 SW480 细胞的侵袭能力,HG 可降低 SW480 细胞的侵袭能力。Western blot, qPCR 结果显示 TGF- β_1 可诱导 SW480 细胞 EMT,侵袭相关基因及蛋白的表达,与空白组比较,STAT3, MMP-9, MMP-14 表达升高,RECK 表达降低。与 TGF- β_1 组比较,HG 组随着 HG 的浓度升高,STAT3, MMP-9, MMP-14 表达降低,RECK 表达升高。

综上所述,HG 能抑制 TGF- β_1 诱导的 SW480 细胞上皮间质转化、生长及侵袭转移。其机制可能是通过下调 N-cadherin, Vimentin, Snail, STAT3, MMP-9, MMP-14 的表达,上调 E-cadherin, RECK 的表达,从而起到抑制 SW480 细胞生长、逆转 EMT 过程、降低侵袭转移的作用。当然,机体内肿瘤组织的生长与调节是多种复杂因素共同作用的结果,要完全弄清楚其中机制尚需更深入的研究。

[参考文献]

- [1] Siegel R, Ward E, Brawley O, et al. Cancer statistics, 2011; the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(4): 212-236.
- [2] He L, Zhou X, Qu C, et al. Musashi predicts poor prognosis and invasion in hepatocellular carcinoma by driving epithelial-mesenchymal transition[J]. Cell Mol Med, 2014, 18(1): 49-58.
- [3] Ksiazkiewicz M, Markiewicz A, Zaczek A J. Epithelial-mesenchymal transition: a hallmark in metastasis formation linking circulating tumor cells and cancer stem cells[J]. Pathobiology, 2012, 79(4): 195-208.
- [4] 赵燕强, 杨立新, 张宪民, 等. 威灵仙的成分、药理活性和临床应用的研究进展[J]. 中药材, 2008, 31(3): 465-470.
- [5] 邸学, 王海波, 翟延君, 等. HPLC 测定藤梨根中熊果酸、齐墩果酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 66-68.
- [6] 刘包欣子, 王瑞平, 邹玺, 等. 常春藤皂苷元对结肠癌细胞 LoVo 增殖、黏附、侵袭和迁移能力的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2013, 29(1): 44-47.
- [7] 王静, 姜达. EMT 与肿瘤的关系及其相关机制[J]. 肿瘤基础与临床, 2011, 24(1): 83-85.
- [8] Dasgupta P, Rizwani W, Pillai S, et al. Nicotine induces cell proliferation, invasion and epithelia l-

- mesenchymal transition in a variety of human cancer cell lines [J]. *Int J Cancer*, 2009, 124(1):36-45.
- [9] Loboda A, Nebozhyn M V, Watters J W, et al. EMT is the dominant program in human colon cancer [J]. *BMC Med Genomics*, 2011, 4(1):1-10.
- [10] Trimboli A J, Fukino K, de Bruin A, et al. Direct evidence for ep-ithelial mesenchymal transitions in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(3):937-945.
- [11] De Wever O, Pauwels P, De Craene B, et al. Molecular and pathologica l signatures of epithelial-mesenchymal transitions at the cancer invasion front [J]. *Histochem Cell Biol*, 2008, 130(3):481-494.
- [12] 胡洁琼. 紫花牡荆素对宫颈癌 HeLa 细胞上皮-间质转化和侵袭的影响[D]. 衡阳:南华大学, 2014.
- [13] Rhim A D, Mirek E T, Aiello N M, et al. EMT and dissemination precedepancreatic tumor formation [J]. *Cell*, 2012, 148(1/2):349-361.
- [14] Klingbeil P, Isacke C M. The 'alternative' EMT switch [J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(4):1-2.
- [15] Kalluri R, Weinberg R A. The basics of epithelial-mesenchymal transition [J]. *Clin Invest*, 2009, 119(6):1420-1428.
- [16] Kasai H, Allen J T, Mason R M, et al. TGF- β_1 induces human alveolar epithelial to mesenchymal cell transition (EMT) [J]. *Respir Res*, 2005, 6(12):56.
- [17] Rees J R, Onwuegbusi B A, Save V E, et al. *In vivo* and *in vitro* evidence for transforming growth factor- β_1 mediated epithelial to mesenchymal transition in esophageal adenocarcinoma [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(19):9583-9590.
- [18] Akanuma N, Hoshino I, Akutsu Y, et al. MicroRNA-133a regulates the mRNAs of two invadopodia-related proteins, FSCN1 and MMP14, in esophageal cancer [J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(1):189-198.
- [19] He L, Chu D, Li X, et al. Matrix metalloproteinase-14 is a negative prognostic marker for patients with gastric cancer [J]. *Dig Dis Sci*, 2013, 58(5):1264-1270.
- [20] 张金玲, 费雁, 陈伟, 等. MMP-2, MMP-14, TIMP-2 在胃癌组织中的表达及意义 [J]. *华中科技大学学报:医学版*, 2013, 42(2):227-230.
- [21] Shanbhogue A K, Prasad S R, Takahashi N, et al. Recent advances in cytogenetics and molecular biology of adult hepatocellular tumors; implications for imaging and management [J]. *Radiology*, 2011, 258(3):673-693.
- [22] 崔闽鲁, 林瑞福. 胃脘痛内镜检查与中医舌象证型关系探讨——附 395 例分析 [J]. *福建中医药*, 1991, 22(2):25-26.
- [23] 郑坚, 顾纓, 周洁, 等. 健脾中药对进展期胃癌生存期及转移复发状况的作用 [J]. *辽宁中医杂志*, 2013, 17(3):16-18.
- [24] Takeda K, Noguchi K, Shi W, et al. Targeted disruption of the mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(8):3801-3804.
- [25] Yang X O, Panopoulos A D, Nurieva R, et al. STAT3 regulates cytokine-mediated generation of inflammatory helper T cells [J]. *Biol Chem*, 2007, 282(13):9358-9363.
- [26] Sano S, Chan K S, Kira M, et al. Signal transducer and activator of transcription 3 is a key regulator of keratinocyte survival and proliferation following UV irradiation [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(13):5720-5729.
- [27] Tomes J, Watt F M. Nanog maintains pluripotency of mouse embryonic stem cells by inhibiting NF kappaB and cooperating with Stat3 [J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(2):194-201.
- [28] Qiu Z. RNA interference-mediated signal transducers and activators of transcription 3 gene silencing inhibits invasion and metastasis of human pancreatic cancer cells [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(7):1099-1106.
- [29] Xie T X, Huang F, Aldape K, et al. Activation of Stat3 in human melanoma promoter brain metastasis [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(6):3188-3196.

[责任编辑 周冰冰]