

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.06.005

· 基础研究 ·

TET1-CD 对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖和迁移的影响及其作用机制

赵全华, 王申森, 马羚, 周志祥, 黄映辉(北京工业大学 生命科学与生物工程学院, 北京 100124)

[摘要] **目的:** 探讨 TET1 催化结构域(TET1-CD)基因高表达对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖、迁移的影响及其可能的作用机制。**方法:** 慢病毒感染建立高表达 TET1-CD 的 MDA-MB-231 细胞系, 用 qPCR 检测细胞中 TET1-CD mRNA 的表达, Transwell 实验和细胞划痕实验检测细胞的迁移能力, MTT 法和克隆形成实验检测细胞的增殖能力, WB 实验检测 MDA-MB-231 细胞上皮间质转化(EMT)途径相关蛋白 E-cadherin、Vimentin、MMP2 以及 Wnt、Hedgehog(HH)通路相关蛋白的表达水平。**结果:** 过表达 TET1-CD 提高乳腺癌 MDA-MB-231 细胞 TET1-CD 的表达水平($P<0.01$), 明显抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖和迁移能力(均 $P<0.01$)。过表达 TET1-CD 可使乳腺癌 MDA-MB-231 细胞 E-cadherin 表达上升, Vimentin、MMP2 表达下调(均 $P<0.05$); 可使 β -catenin、C-myc、CyclinD1、Gli1 蛋白表达水平降低(均 $P<0.05$)。**结论:** 过表达 TET1-CD 可能通过 Wnt、HH 信号通路抑制 EMT 途径进而抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的增殖和迁移。

[关键词] 乳腺癌; MDA-MB-231 细胞; TET1 催化结构域; 表观遗传; 增殖; 迁移; 上皮间质转化

[中图分类号] R392.12; R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)06-0644-06

Effect of TET1-CD on proliferation and migration of breast cancer MDA-MB-231 cells and its underlying mechanism

ZHAO Quanhua, WANG Shensen, MA Ling, ZHOU Zhixiang, HUANG Yinghui (College of Life Sciences and Bioengineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of high expression of TET1 catalytic domain (TET1-CD) gene on the proliferation and migration of breast cancer MDA-MB-231 cells and its underlying mechanism. **Methods:** MDA-MB-231 cell line with high TET1-CD expression was established by lentiviral transfection. Real-time quantitative PCR was used to detect the mRNA expression of TET1-CD. Transwell assay and cell scratch assay were used to detect cell migration ability, MTT assay and colony formation assay were used to detect cell proliferation capacity. And WB was adopted to detect the expressions of EMT-related proteins (E-cadherin, Vimentin, MMP2) and Wnt, Hedgehog pathway-related proteins in MDA-MB-231 cells. **Results:** The MDA-MB-231 cell line with high TET1-CD expression was successfully constructed (all $P<0.01$). TET1-CD over-expression significantly inhibited the proliferation and migration of breast cancer MDA-MB-231 cells ($P<0.01$); in addition, TET1-CD over-expression increased the expression of E-cadherin, but down-regulated the expressions of Vimentin, MMP2, β -catenin, Gli1, C-myc and CyclinD1 (all $P<0.05$). **Conclusion:** TET1-CD may inhibit the proliferation and migration of breast cancer MDA-MB-231 cells by inhibiting the EMT through Wnt and HH signaling pathway.

[Key words] breast cancer; MDA-MB-231 cell; TET1 catalytic domain (TET1-CD); epigenetic; proliferation; migration; epithelial mesenchymal transformation (EMT)

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(6): 644-649. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.06.005]

癌症是全世界高度关注的健康问题之一, 其是导致疾病死亡的第二大原因。乳腺癌、肺癌和结直肠癌是女性最常见的 3 种癌症, 仅乳腺癌就占妇女新发癌症的 30%^[1]。尽管乳腺癌在临床研究已取得很大的进展, 但患者预后仍很差。因此, 探究其发病机制并探索新的治疗方法, 一直是该领域研究的热点。TET1 是重要的表观遗传调控基因, 是体内的一种高效催化 DNA 胞嘧啶的双加氧酶。TET1 催化结构域(TET1 catalytic domain, TET1-CD)基因富含半胱氨酸区域(Cys-rich)和双链 β 螺旋区域(DSBH), 其中

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.21677006); 北京市科委基金资助项目(No.K2015311201501)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No.21677006), and the Science and Technology Commission Foundation of Beijing (No. K2015311201501)

[作者简介] 赵全华(1991-), 女, 硕士生, 主要从事表观遗传学的研究, E-mail: 982965342@qq.com

[通信作者] 周志祥(ZHOU Zhixiang, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事分子细胞生物学的研究, E-mail: zhouzhixiang@bjut.edu.cn; 黄映辉(HUANG Yinghui, co-corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤表观遗传学的研究, E-mail: yhuang@bjut.edu.cn

DSBH结构域含 Fe^{2+} 和 α -酮戊二酸的结合位点,能提供高效的双加氧酶活性^[2-6]。YAO等^[7]研究发现,过表达TET1能抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移,其作用机制可能是通过上调miR-29a的表达;MIAO等^[8]研究发现,TET1抑制乳腺肿瘤的生长、血管内扩张和转移,与HMGA2/TET1/HOXA9信号通路有关。研究^[9]发现,TET1-CD能将5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)转化成5-羟基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC),能明显降低高甲基化DNA的甲基化水平。但关于TET1-CD对乳腺癌细胞增殖、迁移的影响,目前尚不明确。因此,本研究以人乳腺癌细胞株MDA-MB-231为细胞模型,建立高表达TET1-CD的稳定转染细胞株,分析TET1-CD对乳腺癌细胞增殖、迁移的影响,并探讨其分子机制,以期对乳腺癌治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系、主要试剂和仪器

人乳腺癌MDA-MB-231细胞由北京工业大学生命科学与生物工程学院保存。PBS、胎牛血清、双抗、胰酶、DMEM购自Hyclone公司,MTT购自Solarbio公司,Transwell小室购自Millipore公司,兔源/鼠源二抗购自Bioss公司,Gli1、 β -catenin、C-myc一抗购自Cell Signaling Technology公司,其余一抗均购自Bioss公司,Rea-time PCR仪购自Stratagene公司,PCR仪购自BIO-RAD公司,酶标仪购自BioTek公司。

1.2 细胞培养

从液氮中取出MDA-MB-231、HEK293T细胞株,复苏接种到含1%的双抗、10%的FBS的DMEM培养液中,置于37℃、5% CO₂的恒温培养箱内培养,培养至贴壁85%左右即对数生长期时,用胰酶消化成单细胞悬液,离心,重悬后进行传代。

1.3 过表达TET1-CD慢病毒的感染和筛选

构建过表达TET1-CD的质粒,质粒转化大肠杆菌DH5 α ,挑取单克隆,提取质粒,准备包装细胞HEK293T和目的细胞MDA-MB-231细胞,转染复合体的制备,转染包装细胞HEK293T,收获慢病毒,使用慢病毒感染目的细胞,以终浓度为1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的Puro-mycin(嘌呤霉素)进行筛选,筛选1周左右,获得稳定细胞株。

1.4 qPCR检测MDA-MB-231细胞TET1-CD mRNA的表达

稳转的MDA-MB-231细胞总RNA提取,逆转录,上实时荧光定量PCR。定量PCR扩增体系为20 μl ,GAPDH作为内参,TET1-CD引物使用Primer软

件设计引物。TET1-CD上游引物序列为5'-CC-GCTCTTTGGGTGTTAT-3',下游为5'-AAGGCT-TACTGTTGTTTGTG-3';GAPDH上游为5'-CAAGGCTGAGAACGGGAA-3',下游为5'-GCATCGCCCCACTTGATTTT-3'。每个样品进行3次重复,用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法分析qPCR数据,并进行统计分析。 $\Delta\Delta\text{Ct}=(\text{实验组 Ct}_{\text{目的基因}}-\text{实验组 Ct}_{\text{GAPDH}})-(\text{对照组 Ct}_{\text{目的基因}}-\text{对照组 Ct}_{\text{GAPDH}})$ 。

1.5 Transwell和划痕愈合实验检测MDA-MB-231细胞的迁移能力

胰酶消化离心MDA-MB-231细胞,在Transwell小室上面加无血清培养基,铺 1×10^4 个细胞,小室下加有血清培养基,在37℃、5% CO₂细胞培养箱培养48 h后,4%甲醛固定,0.1%结晶紫染色,然后在显微镜下观察穿过小室的细胞量并拍照。在6孔板中铺约 5×10^5 个细胞,使细胞第2天能铺满整个孔面,铺细胞前用Marker笔在孔板底部每隔0.5 cm画一条线,每个孔划4条线,PBS清洗细胞,沿壁加入培养基,细胞培养箱中培养,按0、24、48 h时间点镜下拍照。每次都要在同一观察点观察划痕愈合情况。用Image J软件测量划痕区域长度,计算细胞迁移能力。划痕愈合率=(0 h划痕宽度-24 h划痕宽度)/0 h划痕宽度 $\times 100\%$ 。

1.6 MTT法检测MDA-MB-231细胞增殖能力

将细胞铺于96孔板中,每孔加 2×10^3 个细胞,每组细胞设置6个平行,分0、12、24、48、72、96 h 6个时间点测量,将细胞置于细胞培养箱中培养,每隔24 h取出1个96孔培养板,去除上清,加入90 μl 新鲜完全培养基,每孔加入10 μl MTT溶液,培养4 h。然后移液器吸去上清,每孔加110 μl Formazan溶解液,摇床低速晃动10 min,酶标仪测量在490 nm处的光密度(D)值,根据D绘制细胞增殖曲线。

1.7 克隆形成实验检测MDA-MB-231细胞集落形成能力

胰酶消化离心成单细胞悬液,根据细胞增殖能力在6孔板中将对照组和实验组分别铺 1×10^3 个细胞,细胞培养箱静置培养2周,定期观察细胞。当培养板出现肉眼可见的克隆时,终止实验,4%甲醛固定30 min,0.1%结晶紫染色20 min,清水洗净染色液,干燥克隆培养板后记录实验结果,超过100个细胞的细胞团计为阳性克隆。平板克隆形成率=克隆数/接种细胞数 $\times 100\%$ 。

1.8 WB实验检测EMT、Wnt和Hedgehog(HH)信号通路相关蛋白的表达

提取MDA-MB-231、MDA-MB-231-TET1-CD细胞的总蛋白,加入适量变性细胞裂解液RIPA(1:

100), 冰上裂解 30 min, 裂解过程中翻转几下, 以防细胞沉淀, 4 °C、12 000×g 离心 30 min, 吸取上清, BCA 蛋白浓度测定。组装电泳装置, 配置分离胶, 再浓缩胶, 上样, 80 V 电泳 30 min, 之后换到 120 V 电泳 60 min。用甲醇浸泡 30 s, 激活 PVDF 膜, 转到 PVDF 膜上, 室温下用脱脂奶粉封闭 2 h, 孵育一抗(1:500), 摇床过夜, TBST 洗 3 遍, 每隔 10 min 洗 1 次, 孵育二抗(1:1 000) 1 h, TBST 洗 3 遍, 每隔 10 min 洗 1 次, ECL 底物发光显影成像。根据各自条带灰度值计算 E-cadherin、Vimentin、β-catenin、C-myc、CyclinD1、MMP2、Gli1 的表达。

1.9 统计学处理

采用 SPSS19.0、GraphPad Prism 6.0 和 Image J 统计学软件, 计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间的比较用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

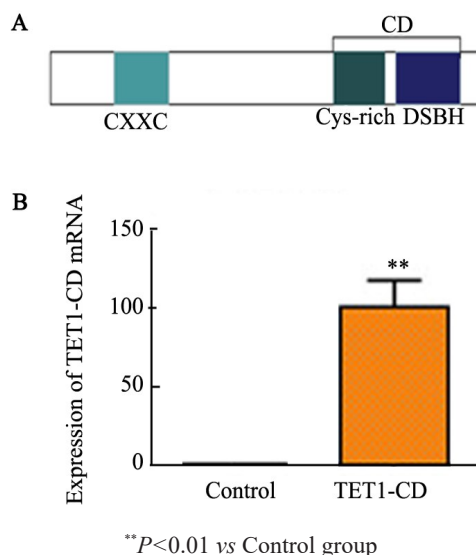
2.1 重组慢病毒感染提高 MDA-MB-231 细胞 TET1-CD mRNA 的表达水平

将收集的慢病毒感染目的细胞 MDA-MB-231, 嘌呤霉素筛选 1 周, 获得慢病毒感染的细胞株, 提取 RNA, 再逆转录成 cDNA (图 1A)。qPCR 检测结果 (图 1B) 显示, 与对照组比较, 重组慢病毒感染的 MDA-MB-231 细胞株 TET1-CD mRNA 的表达水平明显增高 ($P < 0.01$)。

2.2 TET1-CD 过表达抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移

Transwell 迁移实验检测结果 (图 2) 显示, 过表达 TET1-CD 的 MDA-MB-231 细胞穿过膜孔的细胞数明显低于对照组 ($P < 0.01$), 表明 TET1-CD 的过表达对

乳腺癌细胞的迁移能力具有明显的抑制作用。



A: Structure of TET1-CD; B: Expression level of TET1-CD mRNA in MDA-MB-231 cells

图 1 重组慢病毒感染对 MDA-MB-231 细胞株 TET1-CD mRNA 表达的影响

Fig.1 Effect of recombinant lentivirus infection on TET1-CD mRNA expression in MDA-MB-231 cell line

划痕愈合实验检测结果 (图 3) 显示, 相同的划痕实验时间内, 对照组细胞向划痕空间生长的距离逐渐变短, 迁移能力增强 ($P < 0.01$); 而过表达 TET1-CD 组细胞向划痕空间的生长速度显著低于对照组, 距离较于对照组较宽 ($P < 0.01$), 表示 MDA-MB-231 细胞迁移能力被减弱。上述实验结果表明, TET1-CD 对乳腺癌细胞的迁移具有抑制作用。

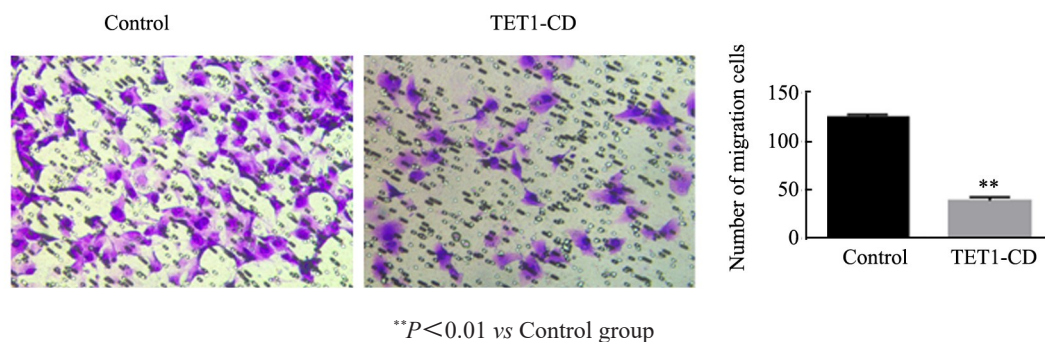


图 2 Transwell 实验检测过表达 TET1-CD 对 MDA-MB-231 细胞迁移的影响 (×200)

Fig.2 Effect of TET1-CD over-expression on the migration of MDA-MB-231 cells detected by Transwell assay (×200)

2.3 过表达 TET1-CD 抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖能力

MTT 法检测结果 (图 4) 显示, 过表达 TET1-CD 后, 实验组 MDA-MB-231 细胞增殖能力明显低于对照组 ($P < 0.01$), 表明 TET1-CD 降低 MDA-MB-231 细

胞的增殖能力。

克隆形成实验检测结果 (图 5) 显示, 过表达 TET1-CD 后, 实验组细胞克隆形成率明显低于对照组 ($P < 0.01$), 表明 TET1-CD 对 MDA-MB-231 细胞增殖具有抑制作用。

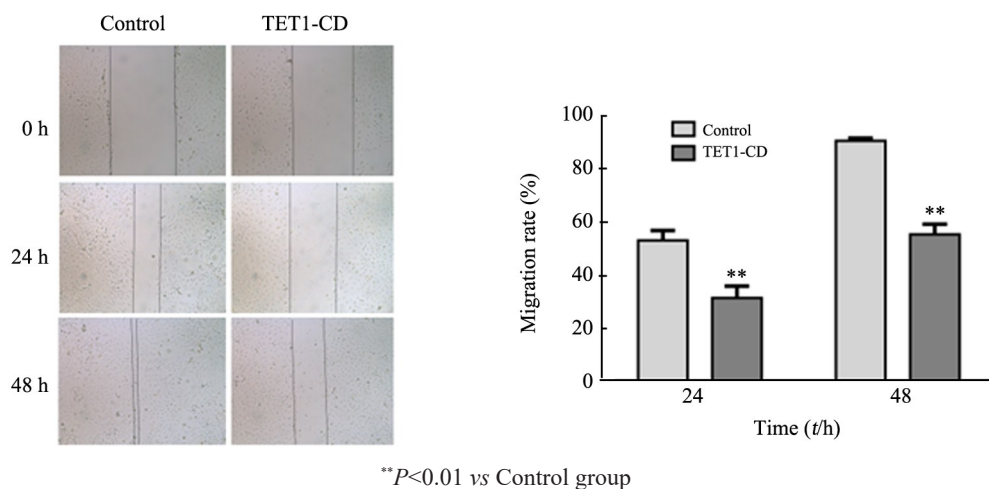


图3 划痕愈合实验检测过表达TET1-CD对MDA-MB-231细胞迁移能力的影响(×100)

Fig.3 Effect of TET1-CD over-expression on migration of MDA-MB-231 cells detected by scratch healing assay (×100)

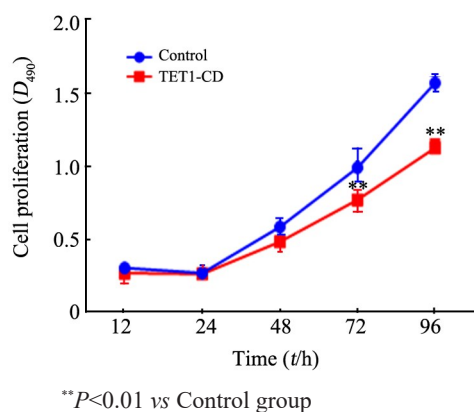


图4 过表达TET1-CD对MDA-MB-231细胞增殖能力的影响
Fig.4 Effect of TET1-CD over-expression on proliferation of MDA-MB-231 cells

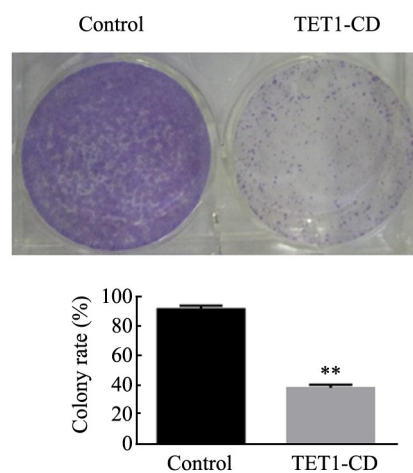


图5 过表达TET1-CD对MDA-MB-231细胞克隆形成能力的影响

Fig.5 Effect of TET1-CD over-expression on cloning ability of MDA-MB-231 cells

2.4 过表达TET1-CD对MDA-MB-231细胞中EMT相关标志蛋白表达的影响

WB实验检测结果(图6)显示,过表达TET1-CD可使MDA-MB-231细胞E-cadherin表达上升,Vimentin、MMP2表达下调($P<0.05$),表明过表达TET1-CD可能通过抑制MDA-MB-231细胞的EMT进程。

2.5 过表达TET1-CD对乳腺癌MDA-MB-231细胞中Wnt、Hedgehog(HH)信号通路相关蛋白的影响

Gli1是HH信号通路中重要的转录因子,Wnt、HH信号通路在肿瘤的增殖和迁移中有重要作用。WB实验检测结果(图7)显示,过表达TET1-CD可使 β -catenin、C-myc、CyclinD1、Gli1蛋白表达水平降低($P<0.05$),表明TET1-CD抑制MDA-MB-231细胞中Wnt、HH信号通路相关蛋白的表达。

3 讨论

遗传学及表观遗传学调控着肿瘤的生长和癌症的发生。表观遗传现象包括DNA胞嘧啶甲基化、基因组印迹、组蛋白修饰、染色体重塑等。DNA胞嘧啶甲基化是最具有代表性的表观遗传修饰,其主要发生在CpG岛,CpG的甲基化与基因的转录活性成负相关。TET1蛋白是TET蛋白家族中的重要成员,TET1-CD是靠近其C端位置的催化结构域,具有5'-羟化酶活性,可以氧化5mc转化成5hmc。有研究^[10-11]显示,TET1-CD过表达可诱导细胞全基因组DNA的

去甲基化;亚硫酸盐测序得出TET1-CD可使肿瘤抑癌基因(TSG)去甲基化,上调抑癌基因P16、APC、TET1、SOCS1和RASSF1A的表达,抑制肝癌细胞的增殖和迁移^[12];在乳腺癌细胞中突变TET1-CD,WB实验验证突变TET1-CD的细胞确实失去了去除5mc的能力,导致乳腺癌细胞的抗侵袭能力减弱^[13]。由此

可见,TET1-CD具有DNA去甲基化作用并对癌细胞的生物学功能产生一定的作用。本研究通过Transwell、细胞划痕愈合、MTT和克隆形成等实验分析TET1-CD对乳腺癌细胞增殖和迁移的影响,结果显示,TET1-CD抑制乳腺癌MDA-MB-231细胞的增殖和迁移。

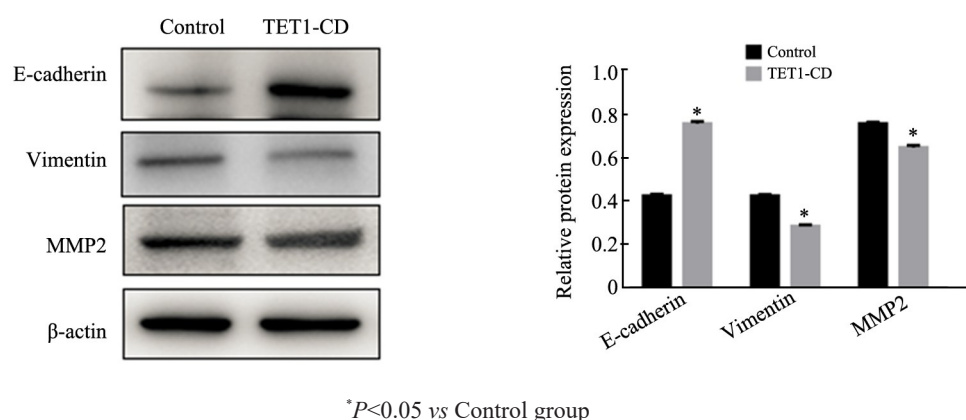


图6 过表达TET1-CD对MDA-MB-231细胞中EMT相关蛋白表达的影响

Fig.6 Effect of TET1-CD over-expression on EMT-related protein expressions in MDA-MB-231 cells

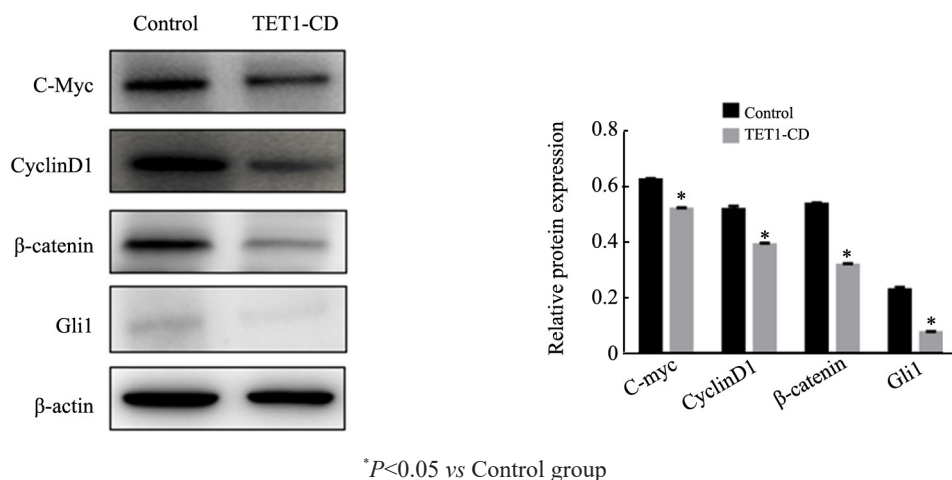


图7 过表达TET1-CD对Wnt、HH信号通路相关蛋白表达的影响

Fig.7 Effect of TET1-CD over-expression on the expressions of Wnt and HH signaling pathway-related proteins

肿瘤的转移是一个多基因多因素的过程,EMT是肿瘤细胞转移的起点,它的发生可以使癌细胞具有更强的侵袭和转移能力,可以诱导肿瘤细胞通过血液循环转移到远处^[14-15]。E-cadherin是EMT重要的上皮细胞标志物,是一种促进上皮细胞黏附的细胞表面蛋白质,抑制其表达有利于细胞的迁移;Vimentin参与肿瘤转移的很多步骤,其表达水平与肿瘤转移的能力呈正相关,其还可以调节E-cadherin/β-catenin复合物促进细胞转移;MMP2可降解细胞外基质从而降低细胞黏附度,增强细胞的转移能力^[16]。因此,EMT的相关蛋白在肿瘤的发生发展中具有重要作用。本研究发现,TET1-CD可使E-cadherin升

高、Vimentin和MMP2降低,由此推测TET1-CD可能通过抑制EMT途径,影响乳腺癌细胞的增殖和迁移。

EMT的发生伴有体内多种信号通路的激活,是较为复杂的一个过程。Wnt通路是调节EMT过程的重要信号通路之一,其能够抑制细胞质中β-catenin的降解诱发EMT。β-catenin在细胞质、核中积累会引起Wnt通路的改变,使其下游靶基因的转录活性增强,促进癌细胞的侵袭与转移,β-catenin的表达与肿瘤细胞的增殖和迁移密切相关^[17]。本研究检测了乳腺癌细胞中β-catenin及其下游靶基因C-myc、CyclinD1的表达,发现转染TET1-CD的MDA-MB-231细胞中这些基因表达降低。HH信号通路也影响着

EMT的发生,在小细胞肺癌中,HH通路通过调节TGF- β 诱发EMT,影响肿瘤的转移^[18];在胰腺癌中,Gli1的持续过表达会使E-cadherin表达下调,促进癌细胞侵袭和迁移^[19]。Gli1的表达水平反映了HH信号通路的活化程度^[20],WB实验检测了HH信号通路下游转录因子Gli1,其表达水平降低。该结果提示TET1-CD抑制乳腺癌细胞的增殖迁移可能和Wnt、HH通路有关。

综上所述,本研究探讨了TET1-CD对乳腺癌细胞MDA-MB-231增殖和迁移的影响及其可能的作用机制。TET1-CD的去甲基化作用影响着基因的表达,调控细胞的生长和发展,抑制乳腺癌细胞的增殖和迁移,这可能与EMT、Wnt、HH信号通路有关,其具体的作用机制还有待实验论证,以期为乳腺癌的治疗提供新靶点。

[参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. CA: A Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21442.
- [2] PASTORW A, ARAVIND L, RAO A. TETonic shift: biological roles of TET proteins in DNA demethylation and transcription[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013, 14(6): 341-356. DOI:10.1038/nrm3589.
- [3] BASANTA-SANCHEZ M, WANG R, LIU Z Z, et al. TET1-mediated oxidation of 5-formylcytosine (5fC) to 5-carboxycytosine (5caC) in RNA[J]. ChemBiochem, 2017, 18(1): 72-76. DOI: 10.1002/cbic.201600328.
- [4] LI L L, LI C, MAO H T, et al. Epigenetic inactivation of the CpG demethylase TET1 as a DNA methylation feedback loop in human cancers[J/OL]. Sci Rep, 2016, 6: 26591[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4880909/>. DOI: 10.1038/srep26591.
- [5] BISWAS S, RAO C M. Epigenetics in cancer: fundamentals and beyond[J]. Pharmacol Ther, 2017, 173: 118-134. DOI:10.1016/j.pharmthera.2017.02.011.
- [6] YAMADA N, YASUI K, DOHI O, et al. Genome-wide DNA methylation analysis in hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Rep, 2016, 35(4): 2228-2236. DOI:10.3892/or.2016.4619.
- [7] PEI Y F, LEI Y, LIU X Q. MiR-29a promotes cell proliferation and EMT in breast cancer by targeting ten eleven translocation 1[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1862(11): 2177-2185. DOI: 10.1016/j.bbdis.2016.08.014.
- [8] SUN M, SONG C X, HUANG H, et al. HMGA2/TET1/HOXA9 signaling pathway regulates breast cancer growth and metastasis[J/OL]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(24): 9920-9925[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3683728/>. DOI:10.1073/pnas.1305172110.
- [9] ZHANG H K, ZHANG X, CLARK E, et al. TET1 is a DNA-binding protein that modulates DNA methylation and gene transcription via hydroxylation of 5-methylcytosine[J]. Cell Res, 2010, 20(12): 1390-1393. DOI:10.1038/cr.2010.156.
- [10] JIN C L, LU Y, JELINEK J, et al. TET1 is a maintenance DNA demethylase that prevents methylation spreading in differentiated cells[J/OL]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(11): 6956-6971[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4066785/>. DOI: 10.1093/nar/gku372.
- [11] JELINEK J, LEE J T, CESARONI M, et al. Digital restriction enzyme analysis of methylation (DREAM)[J]. Methods Mol Biol, 2018, 1708: 247-265. DOI:10.1007/978-1-4939-7481-8_13.
- [12] 刘玉莹. TET1-CD去甲基化激活抑癌基因抑制肝细胞癌[D].南昌:南昌大学, 2018.
- [13] HSU C H, PENG K L, KANG M L, et al. TET1 suppresses cancer invasion by activating the tissue inhibitors of metalloproteinases[J]. Cell Rep, 2012, 2(3): 568-579. DOI:10.1016/j.celrep.2012.08.030.
- [14] DE CRAENE B, BERX G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(2): 97-110. DOI:10.1038/nrc3447.
- [15] GHELDOF A, BERX G. Cadherins and epithelial-to-mesenchymal transition[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2013, 116: 317-336. DOI: 10.1016/B978-0-12-394311-8.00014-5.
- [16] 张青云, 傅俊江, 陈汉春. 上皮间质转化介导肿瘤转移的分子机制[J]. 生命科学研究, 2018, 22(6): 503-510. DOI: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2018.06.011.
- [17] ZHOU X M, ZHANG H, HAN X. Role of epithelial to mesenchymal transition proteins in gynecological cancers: pathological and therapeutic perspectives[J]. Tumour Biol, 2014, 35(10): 9523-9530. DOI:10.1007/s13277-014-2537-1.
- [18] MAITAH M Y, ALI S D, AHMAD A, et al. Up-regulation of sonic hedgehog contributes to TGF- β 1-induced epithelial to mesenchymal transition in NSCLC cells[J/OL]. PLoS One, 2011, 6(1): e16068[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3020967/>. DOI:10.1371/journal.pone.0016068.
- [19] FELDMANN G, DHARA S, FENDRICH V, et al. Blockade of hedgehog signaling inhibits pancreatic cancer invasion and metastases: a new paradigm for combination therapy in solid cancers[J/OL]. Cancer Res, 2007, 67(5): 2187-2196[2019-02-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3073370/>. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3281.
- [20] 冯福彬, 庄静, 刘瑞娟, 等. Hedgehog信号通路相关蛋白Gli1在乳腺癌中的表达及其意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2015, 20(2): 112-115.

[收稿日期] 2019-02-03

[修回日期] 2019-05-06

[本文编辑] 王映红