

· 药理 ·

裸花紫珠提取物的抗乳腺癌转移作用及其机制

陈斌¹, 罗跃华², 王珊¹, 吕红³, 麻俊超¹, 刘婷¹, 柯小琴¹, 付剑江^{1,2*}

(1. 江西中医药大学 药学院, 南昌 330004; 2. 江西省药品检验检测研究院, 南昌 330029;
3. 江西中医药大学 网络与教育技术中心, 南昌 330004)

【摘要】 目的:研究裸花紫珠乙酸乙酯提取物(ethyl acetate extracts from *Callicarpa nudiflora*, ECN)的抗乳腺癌转移作用及其作用机制。**方法:**采用尾静脉注射肿瘤细胞法建立裸鼠实验性肺转移模型, 24 h 后将实验动物随机分为空白组, ECN 低、中、高剂量组(0. 125, 0. 25, 0. 5 g·kg⁻¹), 空白组给予等量溶剂, 每日 *ig* 给药 1 次, 连续 8 周。给药结束后, 采用巢式 PCR 法检测裸鼠肺组织中人细胞角蛋白 19(CK19)基因的表达, 以确定肿瘤细胞的肺转移程度(*n* = 10)。建立肿瘤细胞体外迁移、侵袭模型, 以 100, 200 mg·L⁻¹ ECN 以及 10 nmol·L⁻¹ BB-94(阳性对照)处理 MDA-MB-231 细胞 14 h(*n* = 4), 观察 ECN 对乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 细胞的体外迁移、侵袭的影响; 建立肿瘤细胞体外黏附模型, 以 100, 200 mg·L⁻¹ ECN 以及 10 nmol·L⁻¹ BB-94 处理 MDA-MB-231 细胞 60 min(*n* = 3), 观察 ECN 对乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 细胞的体外黏附能力的影响; 采用 Western blot 法, 检测 MDA-MB-231 细胞分别经 100, 200 mg·L⁻¹ ECN 处理 24 h 后 p-锌指转录因子(p-Snail)和上皮性钙黏附蛋白(E-cadherin)的表达情况。**结果:**体内研究表明, ECN 可显著降低裸鼠肺组织中 CK19 mRNA 的表达(*P* < 0. 01); 体外迁移实验发现, ECN 100, 200 mg·L⁻¹ 组的迁移细胞数与空白组相比显著减少(*P* < 0. 01); 体外侵袭实验显示, ECN 低、高剂量组的侵袭细胞数与空白组相比显著减少(*P* < 0. 01); 体外黏附实验表明, ECN 可干扰肿瘤细胞与细胞外基质蛋白之间的黏附(*P* < 0. 01); Western blot 实验结果表明, ECN 可显著抑制 p-Snail, 并增加 E-cadherin 的表达。**结论:**ECN 具有明显的抗乳腺癌转移作用。抑制细胞内 p-Snail 的活化可能是抗转移作用的机制之一。

【关键词】 裸花紫珠乙酸乙酯提取物; 转移; 乳腺癌; 锌指转录因子; 上皮性钙黏附蛋白

【中图分类号】 R285. 5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2015)18-0094-04

【doi】 10. 13422/j. cnki. syfjx. 2015190094

Anti-metastatic Effects of Extracts from *Callicarpa nudiflora* via Downregulating Snail Activation on Breast Cancer Cell CHEN Bin¹, LUO Yue-hua², WANG Shan¹, LYU Hong³, MA Jun-chao¹, LIU Ting¹, KE Xiao-qin¹, FU Jian-jiang^{1,2*} (1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanchang 330004, China; 2. Jiangxi Institute for Drug Control, Nanchang 330029, China; 3. Network and Education Technology Center, Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the anti-metastatic effects of ethyl acetate extracts from *Callicarpa nudiflora* (ECN) and its mechanisms. **Method:** BALB/c Nu mice were used to establish *in vivo* experimental metastasis mode and the mice were randomly divided into control group and ECN groups treated with 0. 125, 0. 25, 0. 5 g·kg⁻¹ ECN respectively. After 8 weeks of gavage (once a day), human cytokeratin 19 (CK19) mRNA expression in lungs of mice was checked by nest PCR to determine effects of ECN on the formation of lung metastatic foci of breast cancer. *In vitro* invasion and migration assay were involved to determine effects of ECN on metastatic properties of breast cancer cells. MDA-MB-231 cells were treated using ECN at dose of 100, 200 mg·L⁻¹ and BB-94 with the final concentration of 10 nmol·L⁻¹ (*n* = 4). After 14 h incubation, the invaded and migrated cells were calculated. *In vitro* adhesion assay was also used in this study. MDA-MB-231 cells were treated

【收稿日期】 20150121(004)

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81160530, 81260656, 81373955, 81560639); 江西省自然科学基金项目(2010GQY0147); 教育部重点科技项目(211091)

【第一作者】 陈斌, 硕士, 从事中药抗肿瘤药理研究, Tel: 0791-87118901, E-mail: 838165175 @ qq. com

【通讯作者】 * 付剑江, 博士, 副教授, 从事中药抗肿瘤药理研究, Tel: 0791-87118919, E-mail: jianjiang_fu@yeah. net

using ECN at dose of 100, 200 mg · L⁻¹ and BB-94 with the final concentration of 10 nmol · L⁻¹ (*n* = 3). After 60 min incubation, cells attached to matrix proteins were detected. p-Snail and E-cadherin expressions were checked by western blot method in current study to detect the effects of ECN on activation of Snail in MDA-MB-231 cells, which were treated with 100, 200 mg · L⁻¹ ECN for 24 h. **Result:** ECN induced a significant decrease on human CK19 mRNA expression in lung of tumor-bearing mice (*P* < 0.01). Moreover, *in vitro* adhesion, migration and invasion of MDA-MB-231 cells were inhibited significantly when these cells incubated with ECN (*P* < 0.01). It was also showed that ECN affected activity of Snail and expression of E-cadherin in breast cancer cells. **Conclusion:** ECN shows significant anti-metastatic properties. The mechanisms of action of ECN may be associated with suppression of Snail activation.

[**Key words**] *Callicarpa nudiflora*; metastasis; breast cancer; Snail; E-cadherin

裸花紫珠为马鞭草科紫珠属植物,主要分布在我国的广东、江西、海南等地,资源十分丰富。现代研究表明,裸花紫珠具有止血、抗脂质过氧化、镇痛以及抑菌等作用^[1]。近年来,紫珠属植物的抗肿瘤活性也日益受到关注。高秀丽等首先发现杜虹花果实提取成分可显著抑制人喉癌上皮细胞 Hep-2 的体外增殖^[2]。随后的研究表明,从紫珠属植物中提取的黄酮、二萜、环烯醚萜等成分均表现出抗肿瘤活性^[1]。鉴于紫珠属中草药化学成分的普遍性,本文对裸花紫珠的抗转移作用进行了探索,并对其机制做了初步研究。

1 材料

1.1 实验用药 裸花紫珠采自海南儋州市,经江西省药品检验检测研究院中药室鉴定为马草科紫珠属裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* 的地上部分。提取方法:裸花紫珠地上部分,干燥后粉碎成粗粉,80% 的乙醇回流 3 次,合并醇提液,减压浓缩得浸膏,蒸馏水混悬后,依次用等体积的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇分别萃取 3 次,得到 3 个部位。本文使用乙酸乙酯部位作为研究对象。体内实验以 0.5% 的羧甲基纤维素钠水溶液作为溶剂;体外实验以二甲基亚砜(DMSO)为溶剂中,DMSO 的终体积分数 < 0.05%。

1.2 动物 BALB/c Nu 裸鼠,雌性,18 ~ 22 g 由北京大学医学部实验动物科学部提供,合格证号 SCXK(京)2012-0001。

1.3 细胞株及细胞培养 人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 细胞,购自中国医学科学院基础医学研究所细胞库,由江西中医药大学药理学科组传代、保管。MDA-MB-231 细胞培养于含 10% 胎牛血清、青霉素和链霉素的 DMEM 培养基中培养,置于 37 ℃ 5% CO₂ 的培养箱内,3 ~ 4 d 传代 1 次。

1.4 试剂 matrigel (BD Bioscience, 货号 354234), 纤连蛋白 (FN, Sigma-Aldrich, 货号 F1141), MTT

(Sigma-Aldrich, 货号 M2128), BB-94 (Selleck, 货号 S7155), CytoSelect™ 48 孔细胞黏附试剂盒 (Cell Biolabs, 货号 CBA-070), QIAshredder (货号 79656), RNeasy Protect Mini 试剂盒 (货号 74124), One Step RT-PCR 试剂盒 (货号 210210), Multiplex PCR 试剂盒 (货号 206143), 均为 Qiagen 公司提供,抗 p-Snail 多克隆抗体 (Abcam, 货号 ab182654), 抗 E-cadherin 多克隆抗体 (Abcam, 货号 ab1416), 抗 β-actin 单克隆抗体 (Santa Cruz, 货号 SC-130301)。

1.5 仪器 AP48 型 chamber (美国 Neuro Probe 公司), Mastercycler Gradient 型 PCR 仪 (德国 Eppendorf 公司), EC3 型凝胶成像系统 (美国 UVP 公司), ELx800 型酶标仪 (美国 BioTek 公司), BX63 型正置显微镜 (日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 荷人乳腺癌裸鼠肺组织中 CK19 基因相对表达量测定 取裸鼠 40 只,尾静脉注射含有 2 × 10⁶ MDA-MB-231 细胞的生理盐水 200 μL。24 h 后随机分为 ECN 低、中、高剂量和空白组,分别 *ig* 给予裸花紫珠提取物 0.125, 0.25, 0.5 g · kg⁻¹ 以及溶剂,给药体积 0.02 mL · g⁻¹。每天 1 次,连续给药 8 周。给药结束后,将动物处死,取完整肺组织,立即在液氮中冻存。随后采用 QIAshredder 和 RNeasy Protect Mini Kit 提取总 RNA,通过巢式 PCR 检测实验动物肺组织中 CK19 mRNA 含量,以确定肺转移程度。

2.2 RNA 提取及巢式 PCR 肺组织中总 RNA 采用 QIAshredder 和 RNeasy Protect Mini 试剂盒提取。取 10 μL RNA, 2 μL 逆转录酶混合物以及 10 μL 外引物混匀,于 50 ℃ 下进行逆转录反应 30 min (Qiagen One Step RT-PCR Kit)。随后进行 PCR 扩增 95 ℃ 15 min 活化 *Taq* 酶, 94 ℃ 45 s, 58 ℃ 45 s, 72 ℃ 90 s, 共 37 个循环; 72 ℃ 10 min。随后采用 Qiagen Multiplex PCR Kit 进行巢式扩增,扩增条件

94 ℃ 3 min;94 ℃ 45 s,60 ℃ 45 s,72 ℃ 1 min,共 35 个循环;72 ℃ 10 min。CK19 (GenBank number: BC010409) 的目标引物采用 Primer Designer (Scientific & Educational Software Version 2.0)设计,外引物:forward 5'-CCACGTCGTCCTTCGGAGGCC-3' (64 ~ 84 bp),reverse 5'-GTTCCGTCTCAAACCTTGGTTC-3' (529 ~ 549 bp);内引物:forward 5'-TACAGC-CACTACTACACGACCATCC-3' (432 ~ 456 bp),reverse 5'-GGACAATCCTGGAGTTCTCAATG-3' (488 ~ 510 bp)。以 β -actin 基因为内参基因,扩增条件见参考文献[3]。巢式 PCR 产物采用 4% 琼脂糖凝胶进行电泳分离,分离结果在凝胶成像系统中拍照。采用 Gel-Pro Analyzer 4.5 软件分析电泳条带,扫描吸光度 A 。CK19 mRNA 表达水平 = CK19 条带 A/β -actin A 。

2.3 重组基底膜细胞侵袭实验 在孔径为 8.0 μm 的 PVPF 滤膜的粗面涂 FN(0.05 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)作趋化剂,在光滑面铺以 100 μL 稀释的 Matrigel(0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),模拟基质屏障层。AP48 chamber 的下孔内加入含 0.1% BSA 的无血清 DMEM 培养基,每孔 30 μL ;盖上 PVPF 滤膜。在上孔加入细胞悬液,终密度为 $2\times 10^6/\text{mL}$,每孔 50 μL 。同时,按实验组加入含 ECN 培养基 100 μL (ECN 终质量浓度分别为 100,200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$),阳性对照组加入含 BB-94 培养基 100 μL (BB-94 终浓度 10 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$),空白组加入含 0.1% DMSO 的培养基 100 μL ,每组设 4 个复孔。37 ℃,5% CO_2 孵育 14 h。随后,取出滤膜,用甲醇固定 10 min,0.5% 结晶紫染色 60 min,擦掉未穿过膜的细胞,显微镜下计数侵袭细胞数。

2.4 肿瘤细胞体外趋化运动 实验方法、分组给药同 2.3,只是不在滤膜光洁面铺 Matrigel。加入细胞悬液培养 14 h 后,固定、染色、计数。

2.5 体外细胞黏附实验 肿瘤细胞与细胞外基质蛋白的黏附作用采用 CytoSelect™48 孔细胞黏附试剂盒测定。收集对数生长期的 MDA-MB-231 细胞,制成终密度为 $1\times 10^7/\text{mL}$ 的细胞悬液。加入分别固化了牛血清白蛋白(albumin from bovine serum,BSA),玻璃体结合蛋白(vitronectin),层粘连蛋白(laminin),纤连蛋白(fibronectin),胶原蛋白(collagen)IV, collagen I 等细胞外基质蛋白的 CytoSelect™48 孔培养板中,每孔 150 μL ,同时加入 100 μL 含 ECN,BB-94 或 DMSO 的培养基,每组设 3 复孔,37 ℃ 5% CO_2 培养 60 min。培养结束后,小心吸除培养基,PBS 洗涤 3 次,以去除未黏附的细

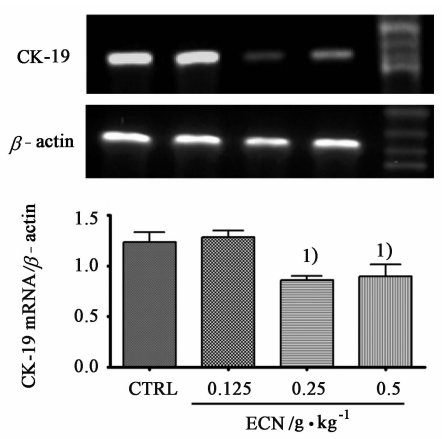
胞。随后,在每孔中加入 150 μL 提取液,孵育 10 min 后酶标仪测定吸光度 A_{560} 。

2.6 检测 p-snail,E-cadherin 蛋白表达 MDA-MB-231 细胞分别经 ECN(终质量浓度分别为 100,200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和溶剂(含 0.05% DMSO 的培养基)处理 24 h 后弃上清,用 PBS 溶液冲洗 1 遍后加 1 mL 含 0.01 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PMSF 的细胞裂解液(10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris,pH 7.6,150 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl,5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA,pH 8.0,10 $\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ Triton X-100,1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ DTT),冰上裂解 30 min,离心(15 000 $\times g$,10 min,4 ℃),取出细胞碎片,测细胞裂解产物的蛋白含量,取等量蛋白在 100 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶中电泳,电泳结束后将蛋白转印至硝酸纤维素膜上,经过封闭阻断后,加入一抗 4 ℃ 孵育过夜,洗膜,用 TTBS 稀释二抗(1:1 000),室温孵育 1 h。洗涤 2 次后,加显色剂显色,并在凝胶成像系统中拍照。采用 Gel-Pro Analyzer 4.5 软件分析电泳条带,扫描吸光度 A 。目的蛋白表达水平 = 目的蛋白 A/β -actin A 。

2.7 统计学分析 应用 SPSS 13.0 统计软件包进行分析,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用单因素方差分析,方差齐性采用 LSD 检验, $P<0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 ECN 对荷人乳腺癌裸鼠肺组织中 CK19 基因相对表达的影响 从图 1 中可知,ECN 中、高剂量组动物肺组织中 CK19 基因的表达量显著低于空白组($P<0.01$)。本研究还采用 MTT 法和人乳腺癌细胞皮下移植法考察了 ECN 对 MDA-MB-231 的体内、外增殖的影响,结果发现 ECN 对 MDA-MB-231 细胞的增殖无显著影响。上述结果表明,ECN 对人乳腺癌的增殖没有明显影响,但可显著抑制乳



CTRL. 空白组;与 CTRL 组相比¹⁾ $P<0.01$ (图 2~3 同)
图 1 ECN 对荷人乳腺癌裸鼠肺组织中 CK19 基因相对表达的影响
Fig.1 Effects of ECN on expression of human CK19 gene in lungs of tumor-bearing BALB/C Nu mice

腺癌细胞在肺组织中形成转移灶。

3.2 ECN 的体外抗转移作用 ECN 可浓度依赖性的抑制乳腺癌细胞的体外迁移能力,其中 100,200 mg·L⁻¹组的迁移细胞数显著低于空白组(*P* < 0.01)。ECN 对 MDA-MB-231 细胞体外侵袭能力的影响,与

空白组穿过重组基底膜的细胞 ECN 各剂量组的抑制作用有统计学差异(*P* < 0.01),见表 1。表 2 所示为 ECN 的体外抗黏附作用结果。与 ECN 孵育 4 h 后,MDA-MB-231 细胞与各种细胞外基质蛋白的黏附能力显著下降(*P* < 0.01),并呈现剂量依赖关系。

表 1 ECN 对 MDA-MB-231 细胞体外迁移和侵袭能力的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	细胞迁移		细胞侵袭	
		细胞数/个	抑制率/%	细胞数/个	抑制率/%
空白	—	1 004 ± 180	—	798 ± 47	—
BB-94	10 ²⁾	259 ± 89 ¹⁾	74. 22	61 ± 23 ¹⁾	92. 36
ECN	100	724 ± 102 ¹⁾	27. 89	429 ± 78 ¹⁾	46. 24
	200	471 ± 110 ¹⁾	53. 19	374 ± 57 ¹⁾	53. 13

注:与空白组相比¹⁾*P* < 0.01;²⁾ BB-94 浓度单位为 nmol·L⁻¹(表 2 同)。

表 2 ECN 对 MDA-MB-231 细胞体外黏附能力的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	<i>A</i> ₅₆₀					
		BSA	Vitronectin	Laminin	Fibronectin	Collagen IV	Collagen I
空白	—	0. 161 ± 0. 04	2. 081 ± 0. 424	1. 840 ± 0. 083	2. 192 ± 0. 198	1. 990 ± 0. 460	1. 415 ± 0. 104
BB-94	10 ²⁾	0. 140 ± 0. 06 ¹⁾	0. 516 ± 0. 022 ¹⁾	0. 199 ± 0. 077 ¹⁾	0. 807 ± 0. 029 ¹⁾	0. 537 ± 0. 014 ¹⁾	0. 386 ± 0. 018 ¹⁾
ECN	100	0. 166 ± 0. 07 ¹⁾	1. 290 ± 0. 233 ¹⁾	0. 690 ± 0. 061 ¹⁾	1. 315 ± 0. 365 ¹⁾	1. 213 ± 0. 219 ¹⁾	1. 198 ± 0. 158 ¹⁾
	200	0. 125 ± 0. 01 ¹⁾	0. 464 ± 0. 019 ¹⁾	0. 274 ± 0. 064 ¹⁾	0. 870 ± 0. 057 ¹⁾	1. 085 ± 0. 035 ¹⁾	0. 534 ± 0. 032 ¹⁾

3.3 ECN 对 p-Snail 蛋白及 E-Cadherin 表达的影响 ECN可显著抑制 p-Snail 的表达,并增加其靶蛋白 E-caherin 的表达。见图 2,3。提示 ECN 可能是通过抑制 Snail 的活化,从而促进 E-caherin 的表达,进而发挥抗乳腺癌转移作用。

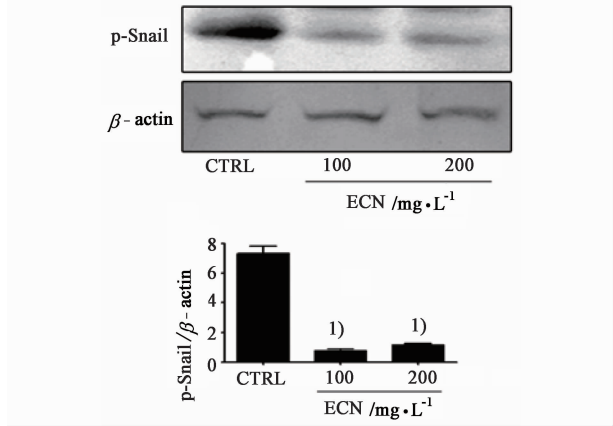


图 2 ECN 对 MDA-MB-231 细胞 Snail 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Fig. 2 Effects of ECN on Snail activity in MDA-MB-231 cell determined by Western blotting assay($\bar{x} \pm s, n = 10$)

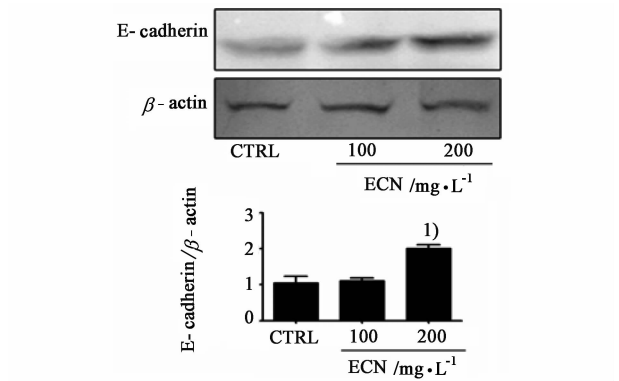


图 3 ECN 对 E-cadherin 表达的影响
Fig. 3 Effects of ECN on E-cadherin expression in MDA-MB-231 cell determined

4 讨论

紫珠属植物来源于马鞭草科,我国现有 46 种,主要分布在长江流域以南各省^[1]。其中较常用的为大叶紫珠、裸花紫珠、杜虹花,紫珠首载于《本草拾遗》,性凉,味苦涩、具有收敛止血、清热解毒的功效,可用于各种内外出血症,对肺胃之出血尤为多

用,也可治疗烧烫伤及热毒疮癌。近年来紫珠属植物的抗肿瘤活性受到人们的关注,但多数报道仅仅限于对裸花紫珠化学成分的细胞毒活性筛选。本文从抗肿瘤转移角度观察了裸花紫珠的活性,并对其可能机制做了初步探讨。

Snail 又称为 Snail1,是一种含有锌指结构的蛋白转录因子^[4]。最初,Snail 是在果蝇中发现的,在胚胎发育中起了至关重要的作用,参与中胚层的形成。近年来的,大量证据证实,Snail 与肿瘤发展、转移密切相关,被认为是促进肿瘤细胞远处转移的关键性调控因素^[5-6]。首先,在乳腺癌、胃癌、结肠癌、肝癌、卵巢癌、头颈部鳞状细胞癌等许多肿瘤组织中 Snail 均过度表达^[7]。Snail 可能是通过调控多种细胞膜表面的黏附分子、基质蛋白、细胞外基质信号因子以及基质蛋白水解酶等的表达水平来调控肿瘤细胞的转移行为。研究表明,在多种高转移乳腺癌细胞系中均可检测到 Snail 的过度表达,而在正常的乳腺细胞中则没有。Olmeda 等人利用 RNA 干扰技术沉默肿瘤细胞中的 Snail 的表达,结果发现肿瘤细胞 MMP-9,血管生成标记和侵袭性显著降低^[8]。E-cadherin 在恶性肿瘤的发生发展过程中有抗转移功能,是 Snail 重要的靶蛋白之一。通过转录水平的调节,Snail 可抑制其表达,使肿瘤细胞易于迁移到其他部位^[9]。

本研究发现,ECN 的体内、外细胞毒作用并不明显,但可显著抑制体内实验性肺转移小鼠肺组织中转移灶的形成,并可显著抑制人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 的体外黏附、迁移以及侵袭能力。为了进一步阐明 ECN 的抗转移作用机制,本研究采用 Western blot 法检测了 ECN 对转录因子 Snail 活性及其靶蛋白 E-cadherin 表达的影响。结果显示,裸花紫珠提取物可显著抑制 Snail 磷酸化并促进 E-cadherin 表达。

综上所述,裸花紫珠乙酸乙酯提取物具有明显的体内、外抗乳腺癌转移用。抑制肿瘤细胞内 Snail 的磷酸化,从而调控下游相关靶基因表达可能是裸花紫珠提取物的抗转移机制之一。

[参考文献]

[1] 王艳晶,杨义芳,高岱. 紫珠属植物的化学成分及生物活性研究进展[J]. 中草药,2008,39(1):133-138.

[2] 高秀丽,程萍,刘杰麟. 紫珠果实提取成分对 Hep-2 细胞株的抑制作用[J]. 贵阳医学院学报,2001,26(6):523-523.

[3] Fu J, Wang W, Liu Y H, et al. *In vitro* anti-angiogenic properties of LGD1069, a selective retinoid X-receptor agonist through down-regulating Runx2 expression on human endothelial cells [J]. BMC Cancer, 2011, 11: 227-237.

[4] Alberga A, Boulay J L, Kempe E, et al. The snail gene required for mesoderm formation in drosophila is expressed dynamically in derivatives of all three germ layers [J]. Development, 1991, 111(4):983-992.

[5] Wang Y, Shi J, Chai K, et al. The role of snail in EMT and tumorigenesis[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2013, 13(9):963-972.

[6] Wu Y, Zhou B. Snail: More than EMT [J]. Cell Adh Miqr, 2010, 4(2):199-203.

[7] 孙彩霞,王海琳. 妇科肿瘤转移机制中 SNAIL 基因的研究进展 [J]. 国际妇产科学杂志,2010,37(4):260-263.

[8] Olmeda D, Moreno-Bueno G, Flores J M, et al. SNAIL is required for tumor growth and lymph node metastasis of human breast carcinoma MDA-MB-231 cells [J]. Cancer Res, 2007, 67(24):11721-11731.

[9] Martin T A, Goyal A, Watkins G, et al. Expression of the transcription factors snail, slug and twist and their clinical significance in human breast cancer [J]. Ann Surg Oncol, 2005, 12(6):488-496.

[责任编辑 聂淑琴]