

消化系统疾病

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002274

禹白附提取物抑制人胃癌细胞增殖转移的实验研究

邱志胜¹, 王小春², 付强³, 李军良¹, 刘天祥¹, 达明绪¹

(1. 甘肃省人民医院肿瘤外科(普外 3 科), 兰州 730000; 2. 甘肃省人民医院消化科, 兰州 730000;

3. 陇南市人民医院普外科, 陇南 732500)

【摘要】目的:观察禹白附提取物对人胃癌细胞 GC9811 细胞增殖、迁移的影响, 探讨其可能的作用机制。**方法:**采用植物化学技术对禹白附进行提取分离, 再采用四甲基偶氮唑蓝比色法(tetramethyl azo thiazole blue colorimetric method, MTT)检测不同浓度禹白附提取物作用不同时间对 GC9811 细胞增殖的抑制作用; 细胞划痕实验和 Transwell 小室法检测禹白附提取物对细胞迁移能力的影响; 实时荧光定量 PCR 和蛋白质印迹法(real-time quantitative polymerase chain reaction method, RT-qPCR)细胞基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、E-钙黏蛋白(E-Cadherin)的表达水平。**结果:**MTT 比色分析法检测结果表明, 禹白附提取物对 GC9811 细胞的生长有明显抑制作用且浓度和作用时间呈正相关; 细胞划痕实验和 Transwell 小室法结果显示, 随禹白附提取物浓度的增加, GC9811 细胞迁移能力下降; 实时荧光定量 PCR 和蛋白质印迹法结果表明, 与禹白附提取物 15 g/L 组比较, 禹白附提取物 30 g/L 组的 MMP-2、MMP-9 表达值均明显降低, 而 E-Cadherin 表达明显上调。**结论:**禹白附提取物能够抑制胃癌细胞的增殖和转移, 其机制可能与其抑制 MMP-9 和 MMP-2 上调 E-Cadherin 的表达有关。因此, 禹白附提取物具有很强的抗肿瘤作用, 为进一步寻找高效低毒的抗肿瘤先导化合物奠定了基础, 值得进行深入研究。

【关键词】禹白附提取物; 胃癌; 细胞转移; 基质金属蛋白酶; 钙黏蛋白**【中图分类号】**R285.5**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2019-01-09*Typhonium giganteum* extract inhibits human gastric carcinoma cell proliferation and metastasisQiu Zhisheng¹, Wang Xiaochun², Fu Qiang³, Li Junliang¹, Liu Tianxiang¹, Da Mingxu¹

(1. Surgical Oncology(General 3 Sections), Gansu Provincial People's Hospital; 2. Department of Gastroenterology, Gansu Provincial People's Hospital; 3. General Surgery, Longnan People's Hospital)

【Abstract】Objective: To examine the effects of *Typhonium giganteum* extract (TGE) on the proliferation and metastasis of human gastric carcinoma cell line GC9811 and to elucidate its possible mechanism of action. **Methods:** TGE was isolated and purified by phytochemistry, and the inhibitory effect of different concentrations of TGE on GC9811 cell proliferation at various time points was measured by MTT colorimetric assay. The effect of TGE on cell migration was determined by cell scratch assay and Transwell migration assay. The mRNA and protein expression of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), and E-cadherin was measured by real-time quantitative PCR and Western blot, respectively. **Results:** The MTT assay showed that TGE significantly inhibited the growth of GC9811 cells in a dose-dependent manner. The cell scratch and Transwell migration assays demonstrated that the migratory ability of GC9811 cells decreased as TGE concentration increased. Furthermore, MMP-2 and MMP-9 expression was significantly downregulated and E-cadherin expression was significantly upregulated in the 30 g/L TGE group than in the 15 g/L TGE group. **Conclusion:** TGE can significantly inhibit the proliferation and metastasis of GC9811 cells, and its mechanism of action may be related to the upregulation of E-cadherin expression and downregulation of MMP-9 and MMP-2 expression. TGE is a highly potent and minimally toxic antitumor lead compound worthy of further investigation.

【Key words】*Typhonium giganteum* extract; gastric carcinoma; cell metastasis; matrix metalloproteinase; E-cadherin

作者介绍: 邱志胜, Email: qzs785y@163.com,

研究方向: 消化道肿瘤。

通信作者: 达明绪, Email: hxdamingxu@hotmail.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81560391)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190917.1045.012.html>

(2019-09-18)

禹白附,又名牛奶白附、白附子,是天南星科犁头尖属植物独角莲的干燥块茎,主要产于河南、四川、陕西等地。到目前为止,在禹白附中,糖、黄酮类、苷、有机酸、氨基酸、甾醇、蛋白质、肽类、生物碱、微量元素等超过 100 种化学成分被人们鉴定^[1]。研究表明禹白附具有抗肿瘤活性,对乳腺癌细胞系(MCF-7)、肝癌细胞系(SMMC-7721)、结肠癌细胞系(HT-29)、宫颈癌细胞系(HeLa)、肺癌细胞系(A549)等^[2-4]多种肿瘤细胞系都具有抑制作用。因其成分复杂,其抗肿瘤作用分子机制尚不清楚。本研究通过观察禹白附提取物在体外对人胃癌细胞 GC9811 增殖及迁移的影响,探讨其具体分子机制,为禹白附提取物用于临床治疗肿瘤提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要药物与试剂 禹白附原药购自河南卢氏中药总公司;RPMI1640、胰酶培养基购自美国 Gibco 公司;小牛血清(FCS)为购自杭州四季青公司;GoTaq® qPCR Master Mix 购自美国 Promega 公司;MTT 细胞增殖检测试剂盒、结晶紫和其他的常规化学试剂均购自上海生工生物公司;PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser、RNAiso™ plus 均购自宝生物工程(大连)有限公司;Anti-MMP-9 兔单克隆抗体、Anti-MMP-2 兔单克隆抗体;Anti-E-Cadherin 鼠单克隆抗体、GAPDH 鼠抗体和氧化物酶 HRP-标记羊抗鼠 IgG 均购自 abcam 公司;RIPA 裂解液(碧云天公司,P0013C);BCA 蛋白测定试剂盒购自碧云天公司;高灵敏度化学发光检测试剂盒购自康为世纪公司。

1.1.2 细胞 人胃癌 GC9811 细胞系,购于上海素尔生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器 BC-J80 型 CO₂ 培养箱购自上海博迅医疗生物仪器股份有限公司;IX73 倒置显微镜购自日本奥林巴斯;SW-CJ-2D 超净实验台购自苏州净化设备仪器厂;CT14RD 冷冻离心机购自上海天美科学仪器有限公司;25 mL 培养瓶、6 孔板、24 孔板、96 孔板、Transwell 板细胞培养板均购自美国康宁;LightCycler® 96 荧光 PCR 仪购自德国 Roche;电泳系统和凝胶成像仪购自美国伯乐公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞系及培养 胃癌细胞系 GC9811,用含 15% 小牛血清、1% 链霉素(100 mg/mL)和青霉素(10 000 U/mL)的 RPMI1640 培养液放置 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中常规培养。

1.2.2 禹白附提取物的制备 10 kg 禹白附原药洗净,切成丝状,装入密封瓶内,1 000 g/瓶,采用 5 000 mL 70% 乙醇过

夜浸泡后,进行离心(2 000 r/min,15 min),取上清,旋干,得到禹白附提取物。

1.2.3 MTT 法测定方法 取对数生长期 GC9811 细胞,用 0.25% 的胰蛋白酶消化对数生长期细胞,细胞计数以 2 000 个/孔接种于 96 孔板中,总体积为 100 μL。设对照组和实验组,对照组加入 0 g/L 的禹白附提取物的培养基 10 μL,实验组分别加入终浓度为 5、10、20、40、80 g/L 的禹白附提取物的培养基 10 μL,每组设置 3 个复孔,分别作用 24、48、72 h 后,弃培养基,每孔加入 10 μL MTT 溶液。孵育 4 h 后,每孔加入 150 μL 二甲基亚砜,置摇床上低速振荡 10 min,使结晶物充分溶解,波长为 570 nm 下测定光密度(optical density,OD)值,按公式存活率(%)=(OD_{实验组}值-OD_{本底组}值)/(OD_{对照组}值-OD_{本底组}值)×100%计算细胞存活率。

1.2.4 细胞划痕实验 取对数生长期 GC9811 细胞加入 6 孔板中,每孔背后含有 5 条横线并含有 5×10⁵ 个细胞。过夜培养后,用 200 μL 的枪头垂直于背后的横线划痕,洗去划下的细胞。设对照组和实验组,对照组加入 0 g/L 的禹白附提取物的培养基 100 μL,实验组分别加入终浓度为 15、30 g/L 的禹白附提取物的培养基 100 μL,每组设置 3 个复孔。处理 48 h 后,取样拍照。

1.2.5 Transwell 小室实验 在下室加 500 μL RPMI1640 (15% 小牛血清) 培养基和 50 μL 不同浓度禹白附提取物溶液。分 3 组实验,禹白附提取物终浓度分别为 0、15、30 g/L,上室加入 2 000 个 GC9811 细胞悬液。在培养箱孵育 48 h 后,取出 Transwell 小室。清除未迁移上室细胞,用 0.1% 结晶紫浸染迁移至下室细胞,显微镜观察细胞并拍照。

1.2.6 qRT-PCR 检测 MMP-9、MMP-2、E-Cadherin 的 mRNA 表达 按 5×10⁵ 个/孔的密度将对数生长期的 GC9811 细胞均匀铺在 6 孔板中,设对照组和实验组,对照组加入为 0 g/L 的禹白附提取物的培养基 100 μL,实验组分别加入终浓度为 15、30 g/L 的禹白附提取物的培养基 100 μL,每组设置 3 个复孔。作用 48 h 后,用 RNAiso™ plus 提取 RNA,再参照反转录试剂盒 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 将提取的总 RNA 反转录成 cDNA,采用 qRT-PCR 检测 MMP-9、MMP-2、E-Cadherin 的表达情况,以 B2M 和 GAPDH 作为内参。用 Beacon Designer 8 软件设计特异性的荧光引物(表 1)。qRT-PCR 反应体系:20 μL 反应体系中含 0.5 μmol/L 上/下游引物、10 μL GoTaq® qPCR Master Mix、0.5 μL cDNA、ddH₂O 20 μL。qRT-PCR 反应程序:第一步,95 ℃预变性 5 min,1 个循环。第二步 95 ℃变性 10 s,59 ℃退火 10 s,72 ℃延伸 15 s,45 个循环。qRT-PCR 仪自动生成熔解曲线。用无模板和无转录反应模板作阴性对照。每个样品进行 3 次重复,2^{-ΔΔCt} 的方法^[5]进行相对定量分析。

1.2.7 Western blot 实验 按 5×10⁵ 个/孔的密度将对数生长期的 GC9811 细胞均匀铺在 6 孔板中,设对照组和实验组,对照组加入为 0 g/L 的禹白附提取物的培养基 100 μL,实验组分别加入终浓度为 15、30 g/L 的禹白附提取物的培养基

100 μ L, 每组设置 3 个复孔。作用 48 h 后, 在冰上用 RIPA 裂解液裂解 20 min, 低温 13 000 r/min 离心 20 min, 采用 BCA 试剂盒测定上清的蛋白含量。取 30~40 μ g 总蛋白进行 SDS-PAGE, 转膜, 5% 脱脂奶粉封闭, 加入 I 抗 4 $^{\circ}$ C 过夜, 再加入 II 抗室温孵育 1 h。最后用 ECL 曝光成像, 凝胶成像系统分析结果。实验重复 3 次。

表 1 用于 qRT-PCR 的引物

引物名称		序列(5' to 3')
MMP-9	正义链	GTACTCGACCTGTACCAGCG
	反义链	TTCAGGGCGAGGACCATAGA
MMP-2	正义链	AAGGACAGCCCTGCAAGTTT
	反义链	GTCAGGAGAGGCCCCATAGA
E-Cadherin	正义链	GTGCCTGAGAACGAGGCTAA
	反义链	CTGCATCTTGCCAGGTCCTT
GAPDH	正义链	TCCGAGTCAACGGATTGCT
	反义链	TTCCTGTTCTCAGCCTTGAC
B2M	正义链	ACAGTGTAAGGGCCTCACTG
	反义链	TGTGTACCCCAACTATGCC

1.3 统计学处理

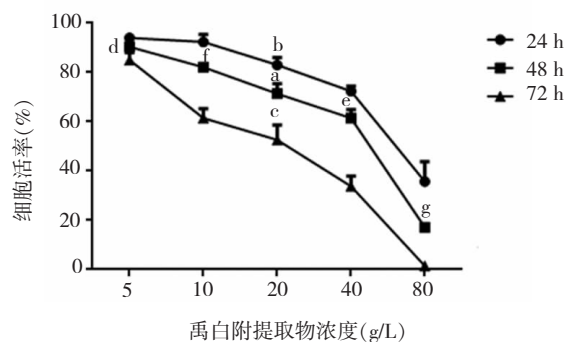
用 GraphPad Prism 6 对计量资料进行分析, 以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。细胞活率和基因表达量为重复测量资料, 采用重复测量方差分析; 多组计量资料进行单因素方差分析, 其组间两两比较采用 TUKEY- t 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 禹白附对 GC9811 细胞增殖的抑制作用

MTT 检测结果表明, 禹白附提取物作用 48 h 时, 5 g/L 实验组细胞活率为 90.38 ± 0.54 , 10 g/L 实验组细胞活率为 82.15 ± 1.03 , 20 g/L 实验组细胞活率为 71.40 ± 4.06 , 40 g/L 实验组细胞活率为 61.46 ± 3.50 , 80 g/L 实验组细胞活率为 17.13 ± 1.02 。经统计学分析, 细胞活率在不同浓度禹白附提

取物作用 48 h 时存在明显统计学差异 ($F_{\text{组别}}=395.400, P_{\text{组别}}=0.000$)。由此可知, 禹白附提取物浓度越高则细胞存活率越低。另外, 20 g/L 禹白附提取物, 24 h 细胞活率为 83.30 ± 3.00 , 48 h 细胞活率为 71.40 ± 4.06 , 72 h 细胞活率为 52.63 ± 6.10 。经统计学分析, 细胞活率在不同浓度禹白附提取物不同作用时间存在明显差异 ($F_{\text{时间}}=34.320, P_{\text{时间}}=0.000$)。由此可知, 相同浓度禹白附提取物作用时间越长则细胞存活率越低 ($F_{\text{交互}}=56.128, P_{\text{交互}}=0.000$)。结果表明禹白附提取物对 GC9811 细胞的生长有抑制作用, 其抑制程度与作用时间和浓度呈正相关。见图 1。



注: a、b、c、细胞活率在不同浓度禹白附提取物不同作用时间存在明显差异; a、d、e、f、g: 细胞活率在不同浓度禹白附提取物作用 48 h 时存在明显差异

图 1 不同浓度禹白附提取物对 GC9811 细胞的生长抑制作用

2.2 禹白附对 GC9811 细胞体外迁移及侵袭能力的影响

划痕实验结果显示, 与对照组 (0 g/L) 比较, 禹白附提取物实验组划痕愈合面积减少, 且划痕愈合面积减少率与禹白附提取物呈正相关, 具体结果如图 2 所示。同时, Transwell 小室法检测结果也发现在禹白附提取物的作用下, 迁移细胞数目随着禹白附提取物浓度的增加而减少。具体结果如图 3 所示。因此, 以上实验结果均表明禹白附提取物处理后能明显抑制 GC9811 细胞体外迁移能力。

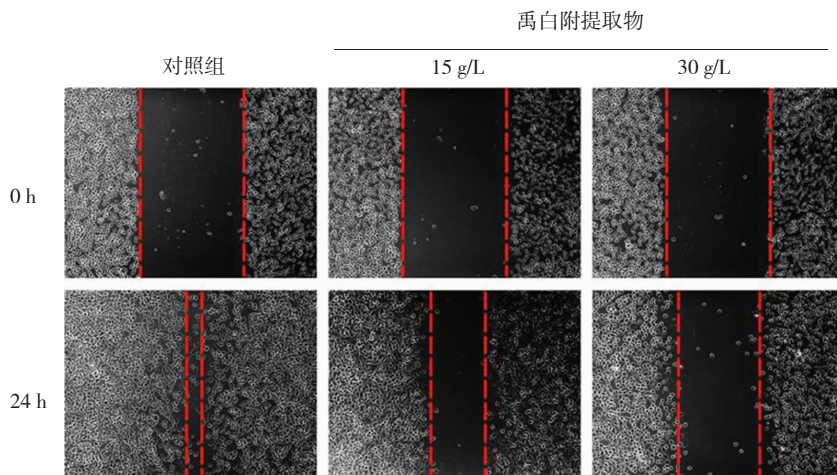


图 2 划痕实验检测禹白附提取物对 GC9811 细胞体外迁移能力的影响

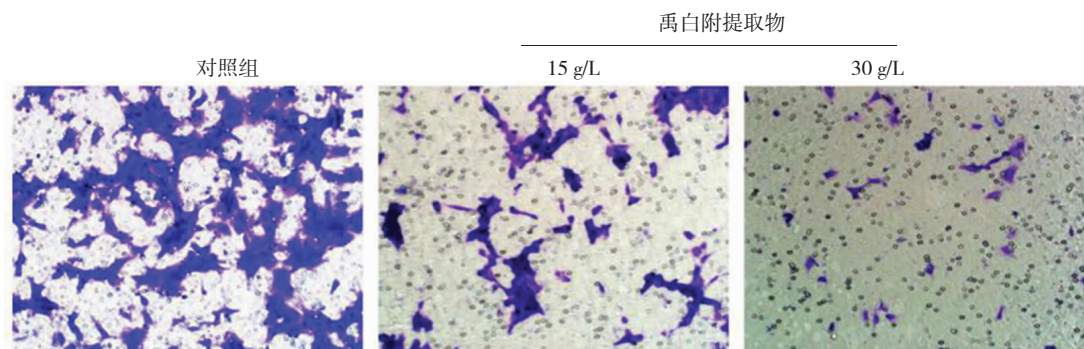
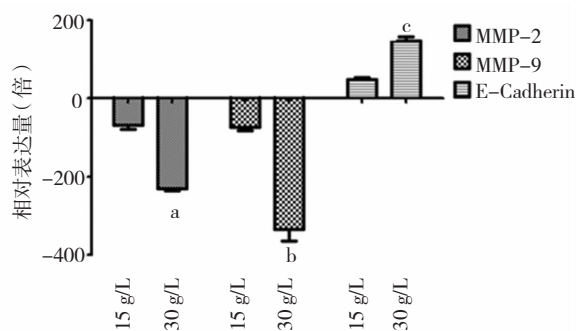


图3 Transwell 小室检测禹白附提取物对 GC9811 细胞侵袭能力影响

2.3 禹白附对 GC9811 细胞 MMP-2、MMP-9 和 E-Cadherin mRNA 表达的影响

qRT-PCR 检测结果显示,与禹白附提取物 0 g/L 组相比,禹白附提取物 15 g/L 组 MMP-2 mRNA 表达量水平为 $-(67.67 \pm 18.77)$ 、30 g/L 组 MMP-2 mRNA 表达量水平为 $-(230.00 \pm 10.58)$ 均明显降低。在不同浓度的禹白附提取物中 MMP-2 的表达量存在明显差异($F=272.700, P=0.000$),禹白附提取物组可明显下调 GC9811 细胞中 MMP-2 的表达。与禹白附提取物 0 g/L 组相比,禹白附提取物 15 g/L 组 MMP-9 mRNA 表达水平为 $-(80.33 \pm 4.16)$ 、30 g/L 组 MMP-9 mRNA 表达水平为 $-(334.00 \pm 50.74)$,均明显降低。在不同浓度的禹白附提取物中 MMP-9 的表达量存在明显差异($F=106.000, P=0.000$),禹白附提取物组可明显下调 GC9811 细胞中 MMP-9 的表达。与禹白附提取物 0 g/L 组相比,禹白附提取物 15 g/L 组 E-Cadherin mRNA 表达水平为 (48.00 ± 8.88) 、30 g/L 组 E-Cadherin mRNA 表达水平为 (146.00 ± 20.23) ,均明显升高。在不同浓度的禹白附提取物中 E-Cadherin 的表达量存在明显差异($F=101.400, P=0.000$),禹白附提取物组可明显上调 GC9811 细胞中 E-Cadherin 的表达。因此,禹白附提取物组可明显下调 GC9811 细胞中 MMP-2、MMP-9 mRNA 表达,上调 GC9811 细胞中 E-Cadherin mRNA 表达。见图 4。



注:相对表达量(倍)是根据禹白附提取物 0 g/L 组的值为 1 进行计算。a: MMP-2, 30 g/L 组与 15 g/L 组相比,两者存在差异;b: MMP-9, 30 g/L 组与 15 g/L 组相比,两者存在差异;c: E-Cadherin, 30 g/L 组与 15 g/L 组相比,两者存在差异

图4 各组 GC9811 细胞的 MMP-2、MMP-9 和 E-Cadherin mRNA 表达

2.4 禹白附提取物对 GC9811 细胞 MMP-2、MMP-9 和 E-Cadherin 蛋白表达的作用

采用 Western blot 检测禹白附提取物作用 GC9811 细胞 48 h 后 MMP-2、MMP-9 和 E-Cadherin 的表达变化。禹白附提取物 15、30 g/L 处理组 MMP-2、MMP-9 蛋白表达水平较对照组依次下降,而 E-Cadherin 的蛋白依次增加(图 5)。

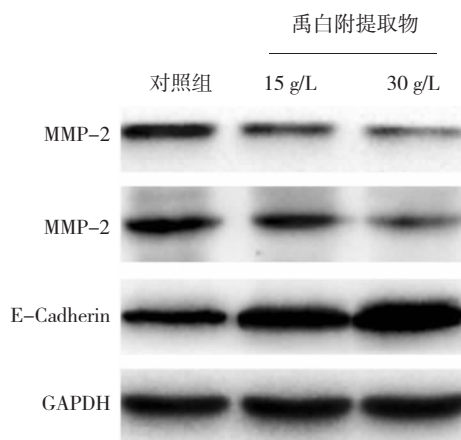


图5 各组 GC9811 细胞的 MMP-2、MMP-9 和 E-Cadherin 蛋白表达

3 讨论

胃癌是起源于胃黏膜上皮的全球常见恶性肿瘤,分别位于恶性肿瘤发病率第 5 位、死亡率第 3 位^[6]。目前针对胃癌的治疗手段首选胃癌切除术,同时联合使用多西他赛、卡培他滨、奥沙利铂及各种 5-FU 衍生物、纳武单抗 OPDIVO (Nivolumab)、程序性死亡受体 1 (PD-1) 抑制剂等化疗药。术后的化疗可有效防止胃癌术后复发和转移,但不良反应大,易产生耐药性。合理联合中医治疗癌症是抗肿瘤药物研究热点之一,可有效减少化疗的用量,减轻化疗毒副作用,从而增强疗效、改善患者生存质量^[7-10]。紫杉醇联合顺铂方案化疗治疗非小细胞肺癌病人已取

得良好临床疗效^[1]。禹白附提取物具有抑制肿瘤增殖,活化免疫系统,提高个体免疫机能等作用,但其抗肿瘤机制阐述还缺乏进一步的研究。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是目前研究发现与侵袭转移有关酶最重要的一类^[12]。在本研究的实验结果表明禹白附提取物可明显抑制 GC9811 细胞的迁移,同时 qRT-PCR 和蛋白质印迹法检测结果显示在胃癌细胞 GC9811 中 MMP-2 和 MMP-9 明显下调。这说明禹白附提取物可能是通过抑制 MMP-2 和 MMP-9 在胃癌中的表达从而抑制胃癌的转移。这与池元龙^[13]、胡潺潺等^[14]和 Li 等^[15]研究一致,推测可能通过以下 3 个方面抑制肿瘤侵袭转移的过程。第一是通过抑制细胞外基质成分降解,防止肿瘤细胞浸润、转移的通道的形成。第二是通过抑制基质中的 TGF- β 等肿瘤生长因子,从而防止肿瘤细胞增殖。第三是通过抑制血管生长因子及其受体,明显防止肿瘤血管生长、肿瘤细胞生长、侵袭和转移。

E-Cadherin 是一种表达在所有上皮组织中跨膜糖蛋白,通过 Cadherin 分子与细胞内骨架相连,发挥细胞间的粘附功能。目前在肿瘤组织发现 E-Cadherin 表达水平下降或者活性受到抑制与肿瘤的侵袭和转移呈负相关性^[16-19]。本研究发现 E-Cadherin 基因的表达随着禹白附提取物的浓度增加而升高。这与唐雪瑶等^[20]研究一致,推测可能通过上调 E-Cadherin 增加肿瘤细胞间的相互粘连作用,从而使转移发生率明显降低^[21]。

综上所述,本研究在分子和细胞层面完整合理的揭示禹白附提取物抗肿瘤的作用机制,为禹白附提取物的抗肿瘤转移提供体外实验证据。并为进一步寻找高效低毒的抗肿瘤先导化合物奠定了基础,值得进行深入研究。

参 考 文 献

[1] 石延榜,张振凌. 白附子化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国实用医药,2008,3(9):130-131.
[2] 游维丽. 白附子的化学成分及药理作用分析[J]. 中国医药指南,2012,10(29):274-275.

[3] 贾豫东,宋 巍. 禹白附的抗肿瘤作用研究进展[J]. 癌变·畸变·突变,2018,12(5):407-409.
[4] 吴 获,董 雷,尹建元,等. 禹白附抗肿瘤活性成分研究(II)[J]. 特产研究,2012,34(3):52-53.
[5] Schmittgen TD, Livak KJ. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method[J]. Nature protocols,2008,3(6):1101-1108.
[6] 冯 睿,张小田,杨 升. 胃癌靶向治疗的研究现状与进展[J]. 中华胃肠外科杂志,2016,19(10):1191-1196.
[7] 韩淑萍,余道军,潘 莉,等. 扶正康复合剂与顺铂联用抑制移植性肺癌的实验研究[J]. 中华中医药学刊,2017,35(5):1219-1224.
[8] 黄飞龙. 虎奶菇多糖提取和抗胃癌活性研究及产品开[D]. 南昌:南昌大学,2018.
[9] 侯公楷. 中医药防治乳腺癌进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2016,11(5):249-253.
[10] 穆 毅,孙德宇. 雷莫芦单抗联合调强放疗治疗晚期胃癌的疗效观察[J]. 中国临床医生杂志,2018,46(11):1330-1333.
[11] 陆舒雯. 益气养阴解毒方加减联合 TP 方案化疗治疗晚期非小细胞肺癌临床观察[D]. 杭州:浙江中医药大学,2018.
[12] 胡梅艳,孙晓红. 细胞外基质、基质金属蛋白酶与恶性肿瘤关系的研究进展[J]. 肿瘤药学,2016,6(1):26-30.
[13] 池元龙. 强力霉素抑制结肠癌增殖、转移的实验研究[D]. 苏州:苏州大学,2006.
[14] 胡潺潺,李青山,刘兰芳,等. RNA 干扰 UBQLN1 基因表达对乳腺癌细胞增殖、凋亡、侵袭的影响及机制研究[J]. 中国免疫学杂志,2018,34(9):1315-1320.
[15] Li M, Li P, Zhang M, et al. Brucine Suppresses breast cancer metastasis via inhibiting epithelial mesenchymal transition and matrix metallo proteinases expressions[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine,2018,24(1):40-46.
[16] 戴保秀. E-cadherin, inhibin- α , ki-67, p57 和 p63 在妊娠滋养细胞疾病中的表达及意义[D]. 大理:大理大学,2018.
[17] 刘小燕,张 凡,陈江平,等. 局部晚期宫颈癌 MMP2、MMP9、CathepsinD、E-cadherin 表达与临床预后关系的研究[J]. 现代肿瘤医学,2014,22(3):619-622.
[18] 徐永兴. MMP2、MMP9 及 E-cadherin 在大肠癌的表达及意义[D]. 苏州:苏州大学,2005.
[19] 程如玉,韩 瑞,王尚华,等. YAP、E-cadherin 和 Vimentin 在口腔鳞癌中的表达及临床意义[J]. 安徽医科大学学报,2018,34(12):1964-1967.
[20] 唐雪瑶,邱艳艳,殷佩浩. 华蟾素抑制结肠癌细胞增殖转移的实验研究[J]. 上海中医药大学学报,2018,32(4):65-69.
[21] 张 穆,刘 君. E-cadherin、 α -catenin 与肿瘤研究进展[J]. 泰山医学院学报,2018,39(10):1195-1198.

(责任编辑:冉明会)