



ZEB2调控胰腺癌PANC-1细胞迁移和侵袭的实验研究*

张荣花¹, 黄金平¹, 李景武², 李亚琦¹, 崔笑妍¹, 熊亚南¹, 刘艳坤³, 章广玲^{4△}

1. 华北理工大学基础医学院 河北省慢性疾病重点实验室(唐山 063210);
2. 唐山市人民医院肿瘤研究所 河北省分子肿瘤学重点实验室(唐山 063001);
3. 唐山市精准医学医学检测重点实验室(唐山 063001);
4. 华北理工大学临床医学院 河北省医工融合精准医疗重点实验室(唐山 063000)

【摘要】目的 研究锌指E-box结合同源异型盒2基因(zinc finger E-box binding homeobox transcription factor-2, ZEB2)对胰腺癌PANC-1细胞增殖、集落形成、迁移和侵袭能力及上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程的影响。**方法** 分析癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)数据库中胰腺癌组织和癌旁组织中ZEB2的表达。将胰腺癌PANC-1细胞分为si-NC组、si-ZEB2组、pcDNA3.1组和pcDNA3.1-ZEB2组,采用qRT-PCR技术和Western blot法验证ZEB2敲降或过表达的有效性。CCK-8实验、集落形成实验、划痕实验和Transwell实验分别检测ZEB2对PANC-1细胞的增殖、集落形成、迁移和侵袭的影响。利用qRT-PCR技术和免疫荧光实验检测细胞中EMT标志物E-cadherin、vimentin的表达水平。通过STRING网站预测与ZEB2具有相互作用的蛋白。**结果** TCGA数据库分析显示,与癌旁组织相比,胰腺癌组织中ZEB2表达水平明显升高($P<0.05$)。与si-NC组相比,si-ZEB2组PANC-1细胞的增殖、集落形成、迁移、侵袭能力减弱;与pcDNA3.1组相比,pcDNA3.1-ZEB2组PANC-1细胞的增殖、集落形成、迁移、侵袭能力增强(均 $P<0.05$)。qRT-PCR技术和免疫荧光实验结果提示,与si-NC组相比,si-ZEB2组PANC-1细胞的上皮标志物E-cadherin mRNA表达升高,而间质标志物vimentin mRNA和蛋白表达降低;与pcDNA3.1组相比,pcDNA3.1-ZEB2组PANC-1细胞中上皮标志物E-cadherin mRNA表达减少,间质标志物vimentin mRNA和蛋白表达增加(均 $P<0.05$)。STRING网站预测出10个蛋白与ZEB2作用密切。**结论** 过表达ZEB2能够促进胰腺癌PANC-1细胞的迁移、侵袭和EMT进程。

【关键词】 ZEB2 胰腺癌 PANC-1细胞 增殖 迁移 侵袭

ZEB2 Regulates the Migration and Invasion of PANC-1 Pancreatic Cancer Cells: An Experimental Study ZHANG Rong-hua¹, HUANG Jin-ping¹, LI Jing-wu², LI Ya-qi¹, CUI Xiao-yan¹, XIONG Ya-nan¹, LIU Yan-kun³, ZHANG Guang-ling^{4△}. 1. Hebei Provincial Key Laboratory for Chronic Diseases, School of Basic Medical Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China; 2. Hebei Provincial Key Laboratory of Molecular Oncology, Cancer Research Institute of Tangshan People's Hospital, Tangshan 063001, China; 3. Tangshan City Key Laboratory of Precision Medical Testing, Tangshan 063001, China; 4. Hebei Provincial Key Laboratory of Medical-Industrial Integration Precision Medicine, School of Clinical Medicine, North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China

△ Corresponding author, E-mail: zhanggl@ncst.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the effects and mechanisms of zinc finger E-box binding homeobox transcription factor-2 (ZEB2) on the proliferation, colony formation, migration, and invasion abilities and the epithelial-mesenchymal transition (EMT) of PANC-1 cells, a human pancreatic cancer cell line. **Methods** Data on the expression of ZEB2 in pancreatic cancer tissues and paracancerous tissues from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database were analyzed. PANC-1 pancreatic cancer cells were divided into si-NC group, si-ZEB2 group, pcDNA3.1 group, and pcDNA3.1-ZEB2 group. qRT-PCR and Western blot were conducted to confirm the effectiveness of ZEB2 knockdown or overexpression. CCK-8, colony formation, wound healing, and Transwell assays were conducted to examine the effects of ZEB2 on the proliferation, colony formation, migration, and invasion of PANC-1 cells. qRT-PCR and immunofluorescence assays were performed to examine the expression of E-cadherin and vimentin, the EMT markers, in the cells. Prediction of proteins interacting with ZEB2 was made through the STRING database. **Results** TCGA database analysis showed that the expression level of ZEB2 in pancreatic cancer tissues was significantly higher than that in adjacent tissues ($P<0.05$). Compared with those of cells in the control group, the proliferation, colony formation, migration, and invasion of cells in the si-ZEB2 group were decreased ($P<0.05$). Compared with those of cells in the pcDNA3.1 group, the proliferation, colony formation, migration and invasion of cells in the pcDNA3.1-ZEB2 group were increased (all $P<0.05$). According to

* 河北省自然科学基金资助项目(No. H2021209026, No. H2021105019)、河北省人力资源和社会保障厅项目(No. C20210340)、河北省重点研发计划项目(No. 213777115D)和河北省财政厅项目(冀财预发[2020]397号)资助

△ 通信作者, E-mail: zhanggl@ncst.edu.cn

the results of qRT-PCR and immunofluorescence assays, compared with those of the si-NC group, the expression of E-cadherin mRNA, an epithelial marker, in the si-ZEB2 group increased, while the expression of vimentin mRNA, an mesenchymal marker, and the protein decreased. Compared with those of the pcDNA3.1 group, the expression of E-cadherin mRNA in the PANC-1 cells of the pcDNA3.1-ZEB2 group decreased, while the expression of vimentin mRNA and the protein increased (all $P < 0.05$). Analysis with the STRING database predicted that 10 proteins had close interaction with ZEB2. **Conclusion** Overexpression of ZEB2 promotes the migration, invasion, and the EMT process of PANC-1 pancreatic cancer cells.

【Key words】 ZEB2 Pancreatic cancer PANC-1 cell Proliferation Migration Invasion

胰腺癌(pancreatic cancer, PC)是一种高度恶性的消化系统实体肿瘤,其早期的临床症状不明显,大部分患者在确诊时已达癌症晚期,错过手术治疗的最佳时间,只有少数人可以进行根治性切除术,且患者术后的预后情况及5年生存率仍不乐观,是困扰全世界的健康难题之一。因此,迫切需要了解胰腺癌发生发展的潜在分子机制,寻找肿瘤治疗新靶点,为临床诊疗手段的革新和发展提供更多的实验依据。

锌指E-box结合同源异型盒2基因(zinc finger E-box binding homeobox transcription factor-2, ZEB2)位于染色体2q22.3,长度为70 kb,由10个外显子组成,结构上包括一个中央同源框和两个锌指域^[1]。有文献研究报道,ZEB2通过抑制E-cadherin的表达来诱导细胞发生上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[2],促进细胞迁移和侵袭,在多种类型的癌症中起促癌作用。此外,ZEB2与各种癌症亚型的不良预后和较差的总生存期有关^[3]。因此,ZEB2可在发育和疾病过程中发挥重要作用,是上皮向间质转化的有效诱导剂^[4],是EMT在癌症和发育过程中的关键参与者之一。

本研究通过体外细胞实验,探讨ZEB2对胰腺癌PANC-1细胞迁移和侵袭能力的调控作用,以期为胰腺癌新的治疗靶点的选取提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人胰腺癌细胞系PANC-1购自武汉普诺赛公司。DMEM高糖细胞培养基、青霉素-链霉素混合液、胰酶(含0.02%EDTA)均购自北京中生奥邦生物科技有限公司,胎牛血清购自美国BI有限公司,Lipofectamine 2000购自美国Thermo公司,Trizol总RNA提取试剂购于美国Thermo公司,实验过程中所用质粒pcDNA3.1、pcDNA3.1-ZEB2(ZEB2过表达质粒),3条si-ZEB2(ZEB2敲降si-RNA,标号分别为si-ZEB2#1、si-ZEB2#2、si-ZEB2#3)及其对照si-RNA(si-NC)均购自通用生物(安徽)股份有限公司,CCK-8试剂盒购自武汉优试生物技术有限公司,反转录

试剂盒及qRT-PCR试剂盒购自北京聚合美生物科技有限公司,兔源抗ZEB2单克隆抗体、兔源抗Vimentin单克隆抗体均购自Affinity生物研究中心,10×电泳缓冲液、10×蛋白电转缓冲液、10×封闭-洗涤缓冲液(TBST)、ECL发光液、羊抗兔二抗均购自北京普利莱基因技术有限公司。

1.2 数据库在线分析

分析癌症基因组图谱数据库(The Cancer Genome Atlas, TCGA)中胰腺癌组织和癌旁组织(包括179例胰腺癌组织和171例癌旁组织)的基因表达(<http://tcga-data.nci.nih.gov/taga/>),利用GEPIA在线工具获得ZEB2在胰腺癌组织中表达的柱状图(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)。为了确定ZEB2调节PANC-1细胞生物学功能的具体分子机制,利用STRING在线数据库分析与ZEB2有相互作用的蛋白(<https://cn.string-db.org/>),蛋白名称输入“ZEB2”、物种选择“Homo sapiens”,获得ZEB2的蛋白-蛋白互作网络图(PPI)。

1.3 细胞培养及分组

PANC-1细胞采用含10%胎牛血清的DMEM高糖完全培养基,配制完全培养基时加入1%双抗。细胞放置在含体积分数5%CO₂的37℃恒温孵育箱中进行细胞培养,按1:2或1:3比例传代,每隔2天传代1次。实验分为si-NC组、si-ZEB2组、pcDNA3.1组、pcDNA3.1-ZEB2组,各组分别转染si-NC、si-ZEB2、pcDNA3.1和pcDNA3.1-ZEB2,转染步骤参照Lipofectamine 2000说明书,转染终浓度均为20 nmol/L,转染4~6 h后换无双抗含血清的培养液。

1.4 qRT-PCR检测ZEB2对PANC-1细胞中E-cadherin、vimentin、ZEB2 mRNA表达的影响

采用Trizol法提取细胞总RNA,通过Nanodrop仪器测定所提RNA质量及浓度,使用逆转录试剂盒将mRNA逆转录为cDNA。根据说明书使用qRT-PCR系统进行检测,引物由上海生工公司合成,序列见表1,反应程序如下:两步法PCR扩增标准程序:95℃ 30 s,1个循环;95℃ 5 s,60℃ 34 s,40个循环。以GAPDH作为内参,使用2^{-ΔΔCt}计算基因相对表达量,实验重复3次。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

Gene name	Primer sequences
E-cadherin (F)	5'-AGTCACTGACACCAACGATAAT-3'
E-cadherin (R)	5'-ATCGTTGTTCACTGGATTGTG-3'
Vimentin (F)	5'-TCGTGAATACCAAGACCTGCTCAATG-3'
Vimentin (R)	5'-AATCCTGCTCTCCTCGCCTTCC-3'
ZEB2 (F)	5'-GAAGACAGAGAGTGGCATGTAT-3'
ZEB2 (R)	5'-GTGTGTTTCGTATTTATGTCGCA-3'
GAPDH (F)	5'-CAGGAGGCATTGCTGATGAT-3'
GAPDH (R)	5'-GAAGGCTGGGGCTCATT-3'

1.5 Western blot检测ZEB2对PANC-1细胞中ZEB2蛋白表达的影响

细胞转染48 h后,提取总蛋白,使用BCA检测试剂盒测定细胞蛋白浓度。将蛋白变性后按照每孔15 μg 上样,进行SDS-PAGE电泳、转膜,脱脂奶粉室温封闭2 h,然后在对应抗体中4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。第2 d二抗孵育2 h后,ECL显色,拍照后通过ImageJ软件分析条带灰度值,实验重复3次。

1.6 CCK-8实验检测ZEB2对PANC-1细胞增殖的影响

各组细胞转染后24 h,用胰酶将其消化,以 5×10^3 个/孔接种于96孔板,每组设置3个复孔,于接种后24 h、48 h、72 h、96 h每孔加入10 μL CCK-8试剂和100 μL 培养液。孵育2 h后,用酶标仪测定450 nm波长下吸光度值,实验重复3次。

1.7 克隆形成实验检测ZEB2对PANC-1细胞克隆形成的影响

取各组转染后24 h的细胞以 2×10^3 个/孔接种于6孔板,每组设3个复孔。培养过程中每3 d补加一次培养液,在倒置显微镜下观察细胞集落形成情况。选取细胞数 ≥ 50 个的集落作为计数的对象,结晶紫对细胞进行染色,在光线适宜处拍照。

1.8 划痕实验检测ZEB2对PANC-1细胞迁移距离的影响

将各组细胞按照 2×10^5 个/孔接种于6孔板中,当细胞密度达到50%时进行转染。换液后,用200 μL 枪头在孔内均匀划直线,PBS清洗细胞碎片,加入无血清培养基,显微镜下拍照,随后置于培养箱中继续培养。转染后24 h、48 h时在显微镜下观察细胞迁移状态并拍照。计算各组细胞迁移率,迁移距离用ImageJ软件测量,迁移率=(0 h划痕宽度-24/48 h划痕宽度)/0 h划痕宽度 $\times 100\%$,实验重复3次。

1.9 Transwell小室检测ZEB2对PANC-1细胞迁移和侵袭的影响

提前制备质量浓度约为200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的Matrigel基质胶工作液,按100 $\mu\text{L}/\text{孔}$ 加至侵袭实验所用小室上室(迁移实

验不加),置于37 $^{\circ}\text{C}$ 孵箱孵育30 min,等待基质胶凝固。将转染后的细胞以 5×10^4 /孔接种于Transwell上层小室,上室使用无血清培养基,下层小室加入650 μL 含20%FBS的DMEM培养基,置于培养箱中培养24 h。次日,取出上层小室,吸净其中培养液,生理盐水洗3遍,棉签轻拭,用结晶紫染色5~10 min,生理盐水洗净。显微镜下随机选取视野进行拍照,利用Image J软件计算各组细胞迁移数,计算穿膜细胞数量的平均值,实验重复3次。

1.10 免疫荧光技术检测ZEB2对PANC-1细胞中蛋白表达的影响

收集各组转染24 h的细胞,适量接种至共聚焦小皿中继续培养,细胞生长至50%后弃去培养液,用PBS在摇床上清洗2次,每次5 min。4%多聚甲醛固定30 min,清洗后0.2%Triton-X-100对细胞打孔,每孔加入5%BSA进行免疫封闭1 h,在对应一抗中室温结合30 min,置于4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日在室温条件下摇床避光孵育二抗45 min,清洗后每孔避光加入DAPI室温孵育,用荧光显微镜观察拍照,并利用Image J软件对平均荧光强度进行定量分析,实验重复3次。

1.11 统计学方法

采用Prism 7.0统计学软件对各项实验数据进行分析处理。结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两个独立样本间的比较采用独立样本t检验,两个以上分组组别之间通过单因素方差分析进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ZEB2在正常胰腺组织和胰腺癌组织中的表达差异

见图1。根据TCGA数据库对179例胰腺癌组织和171例癌旁组织中ZEB2 mRNA的表达差异进行分析,结果表明,与癌旁组织相比,ZEB2在胰腺癌组织中表达量明显升高($P < 0.001$)。

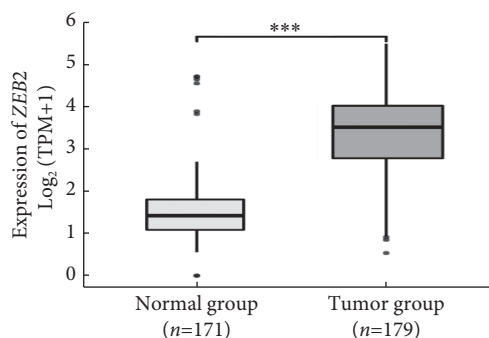


图 1 ZEB2 mRNA在胰腺癌组织和癌旁组织中的表达水平
Fig 1 The expression of ZEB2 mRNA in pancreatic cancer tissues and paracancerous tissues

TPM: transcripts per million; *** $P < 0.001$, vs. normal group.

2.2 *ZEB2*敲降和过表达效率的检测

为证明转染有效性,在PANC-1细胞中转染si-NC、3条敲降si-*ZEB2*(si-*ZEB2*#1、si-*ZEB2*#2、si-*ZEB2*#3)、pcDNA3.1空载对照或pcDNA3.1-*ZEB2*过表达质粒,采用qRT-PCR技术和Western blot技术在mRNA和蛋白水平检测各组细胞中*ZEB2*的表达水平。如图2所示,与si-NC组相比,3组si-*ZEB2*组*ZEB2* mRNA和蛋白表达水平均降低($P < 0.01$),选取敲降效果最好的si-*ZEB2*#2进行后续实验研究。如图3所示,与pcDNA3.1组相比,pcDNA3.1-*ZEB2*组*ZEB2* mRNA和蛋白表达水平均提高($P < 0.001$)。

行后续实验研究。如图3所示,与pcDNA3.1组相比,pcDNA3.1-*ZEB2*组*ZEB2* mRNA和蛋白表达水平均提高($P < 0.001$)。

2.3 敲降或过表达*ZEB2*对PANC-1细胞增殖、集落形成能力的影响

结果如图4所示,与si-NC组相比,si-*ZEB2*组PANC-1细胞增殖、集落形成能力减弱(P 均 < 0.05);而与pcDNA3.1组相比,pcDNA3.1-*ZEB2*组细胞增殖、集落形成能力增

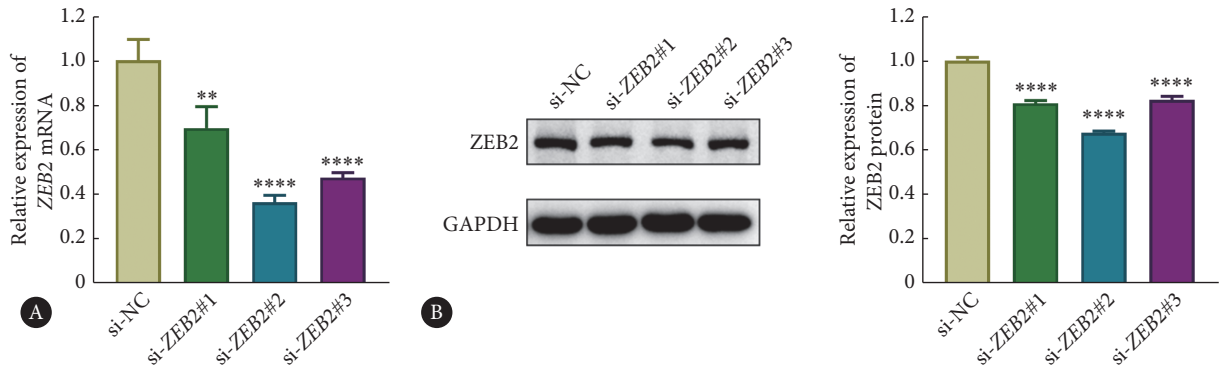


图 2 敲降组PANC-1细胞中*ZEB2* mRNA (A) 和蛋白 (B) 的检测结果

Fig 2 *ZEB2* mRNA (A) and proteins (B) in PANC-1 cells of the knockdown group

** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$, vs. si-NC group, $n=3$.

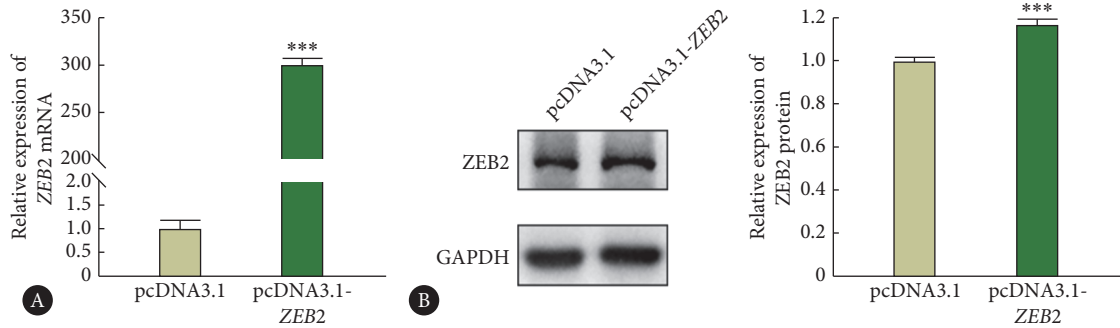


图 3 过表达组PANC-1细胞中*ZEB2* mRNA (A) 和蛋白 (B) 的检测结果

Fig 3 *ZEB2* mRNA (A) and proteins (B) in PANC-1 cells of the overexpression group

*** $P < 0.001$, vs. pcDNA3.1 group, $n=3$.

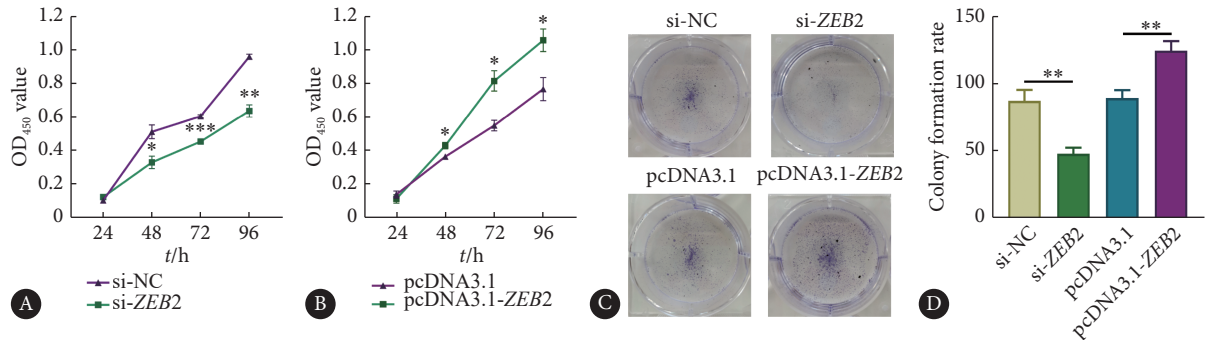


图 4 *ZEB2*对PANC-1细胞增殖 (A, B) 和集落形成 (C, D) 能力的影响

Fig 4 Effect of *ZEB2* on proliferation (A, B) and colony forming (C, D) ability of PANC-1 cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, vs. si-NC or pcDNA3.1 groups, $n=3$.

强,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。

2.4 敲降或过表达ZEB2对PANC-1细胞迁移和侵袭能力的影响

如图5、图6所示。与si-NC组相比, si-ZEB2组PANC-

1细胞迁移距离在转染24 h、48 h时减少,细胞迁移数量和侵袭数量减少;而与pcDNA3.1组相比, pcDNA3.1-ZEB2组细胞迁移距离在转染24 h、48 h时增加,细胞迁移数量和侵袭数量增加,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。

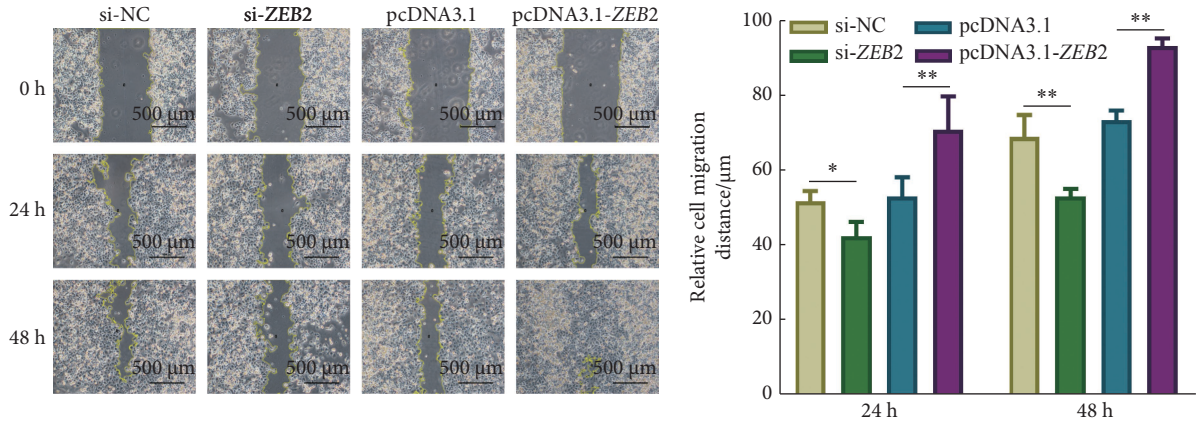


图 5 ZEB2对PANC-1细胞迁移距离的影响

Fig 5 Effect of ZEB2 on the migration distance of PANC-1 cells

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, vs. si-NC and pcDNA3.1 group, $n=3$.

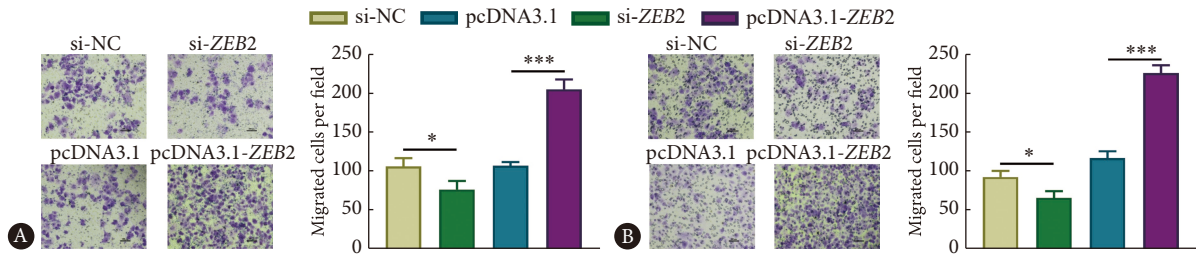


图 6 ZEB2对PANC-1细胞迁移 (A) 和侵袭 (B) 数量的影响 (结晶紫染色 $\times 100$)

Fig 6 Effect of ZEB2 on the migration (A) and invasion (B) of PANC-1 cells (crystal violet staining $\times 100$)

* $P<0.05$, *** $P<0.001$, vs. si-NC and pcDNA3.1 groups, $n=3$.

2.5 敲降或过表达ZEB2对PANC-1细胞中EMT标志物表达水平的影响

如图7所示,与si-NC组相比, si-ZEB2组细胞中敲降ZEB2后,上皮标志物E-cadherin mRNA表达水平升高,而间质标志物vimentin mRNA和蛋白的表达水平均降低;而与pcDNA3.1组相比, pcDNA3.1-ZEB2组细胞中过表达ZEB2后, E-cadherin mRNA表达水平降低、vimentin mRNA和蛋白表达水平均升高,以上差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。

2.6 生物信息学预测与ZEB2有相互作用的蛋白

PPI筛选出10个与ZEB2具有相互作用及靶向关系的蛋白,包括EMT相关蛋白ZEB1、CDH1(E-cadherin)、CDH2(N-cadherin)、Twist1、Twist2,见图8,提示ZEB2与细胞的迁移侵袭能力相关。

3 讨论

胰腺癌是常见消化系统恶性肿瘤之一,是名副其实的“癌中之王”,其恶性程度高,侵袭性强,发展迅速,预后极差^[5]。随着饮食结构和生活规律的变化,胰腺癌成为现如今一种十分常见的恶性消化道肿瘤。胰腺癌的病因复杂,近年来的调查报告发现其发生与吸烟、饮酒、高脂肪和高蛋白饮食、过量饮用咖啡、环境污染及遗传等因素有关^[6]。胰腺癌易转移、预后差,对其作出早期诊断可能为患者的治疗提供帮助,改善患者生存质量并提高患者生存期。

ZEB2通过抑制E-cadherin的表达来诱导细胞发生EMT,促进细胞迁移和侵袭,在多种类型的癌症中起促癌作用。例如,ZEB2通过促进Wnt/ β -catenin信号传导进而

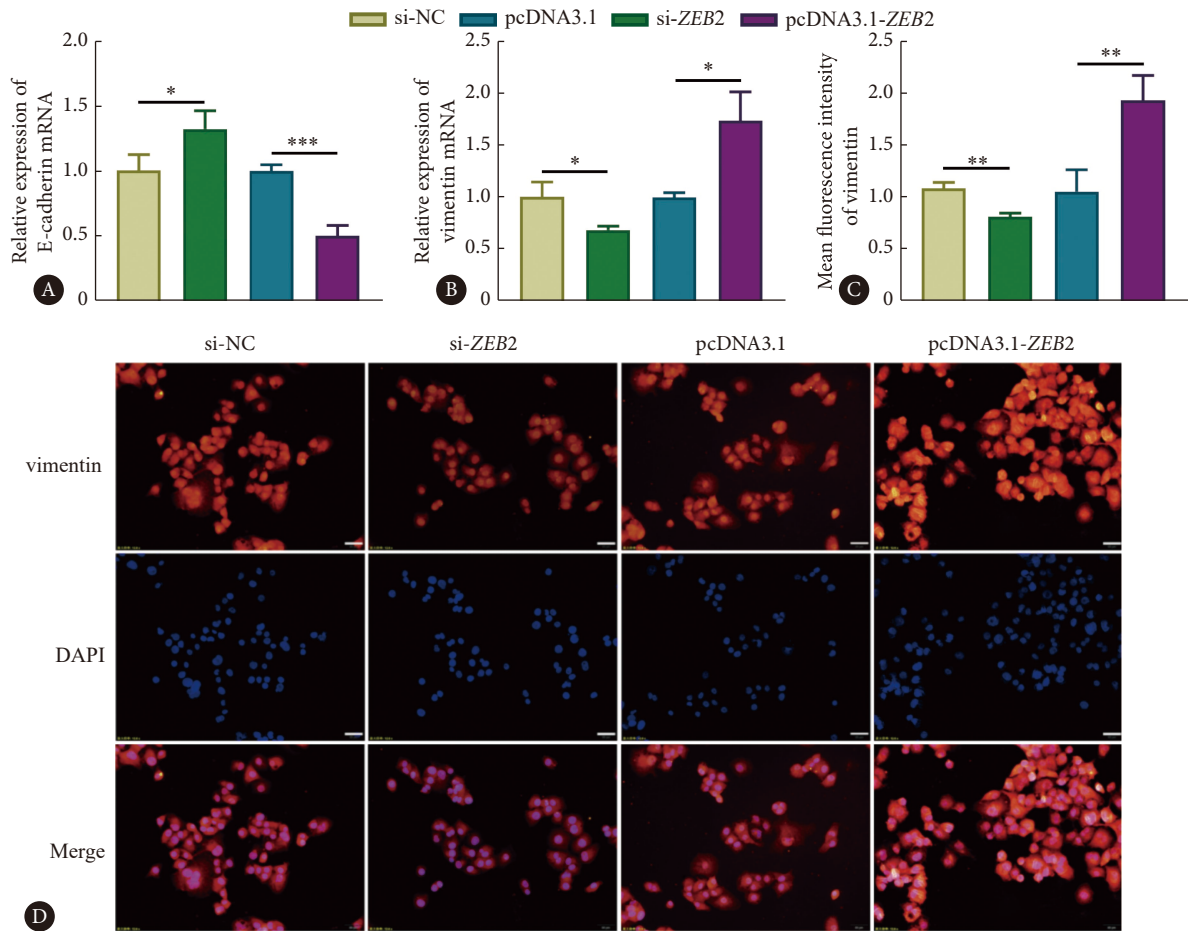


图 7 ZEB2对PANC-1细胞中EMT标志物表达的影响 (×200)

Fig 7 Effect of ZEB2 on the expression of EMT markers in PANC-1 cells (×200)

A-B: the qRT-PCR assay; C-D: the immunofluorescence assay. * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001, vs. si-NC and pcDNA3.1 groups, n=3.

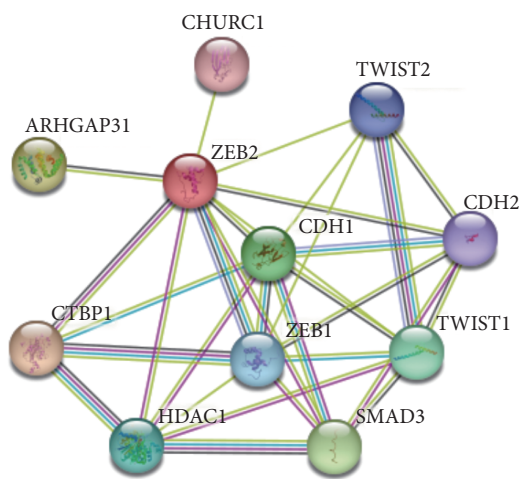


图 8 STRING分析ZEB2的PPI

Fig 8 PPI (protein-protein interaction) analysis of ZEB2 with STRING database

促进结肠直肠癌^[7], ZEB2能够促进三阴性乳腺癌发生EMT和转移^[8], ZEB2作为miR-498在肝癌细胞中的下游效

应子, 其过表达挽救了miR-498对肝癌细胞增殖, 迁移和侵袭的抑制作用^[9]. 此外, ZEB2与各种癌症亚型的不良预后和较差的总生存期有关^[10].

本研究结果显示, 与癌旁组织相比, 胰腺癌组织中ZEB2表达水平升高. 高表达的ZEB2可以增强胰腺癌细胞的增殖、集落形成、迁移和侵袭能力, 抑制EMT上皮标志物E-cadherin的表达, 促进EMT间质标志物vimentin的表达; 而对ZEB2进行敲降可有效抑制胰腺癌细胞的增殖、集落形成、迁移和侵袭, 上调E-cadherin的表达, 下调vimentin的水平. STRING网站分析出10个与ZEB2具有相互作用的蛋白, 包括EMT相关蛋白ZEB1^[11-12]、CDH1(E-cadherin)^[13-14]、CDH2(N-cadherin)^[15]、Twist1^[16]、Twist2^[17], 后续课题组将继续研究ZEB2与多种EMT相关因子的关系, 以及与ZEB2有相互作用的上游基因, 以完善整条通路, 为胰腺癌的早期发现和治疗提供更多分子机制层面的理论支持.

综上所述, ZEB2作为一种胰腺癌的促癌因子, 可能

在胰腺癌的深入探究中具有重要的研究价值,其机制可能与调控细胞迁移侵袭能力、调控EMT相关因子的表达相关。

* * *

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] WILLEKE D H, WOUTER D, KATERINA A, *et al.* Endothelial Zeb2 preserves the hepatic angioarchitecture and protects against liver fibrosis. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(5): 1262–1275. doi: 10.1093/cvr/cvab148.
- [2] STEMMLER M P, ECCLES R L, BRABLETZ S, *et al.* Non-redundant functions of EMT transcription factors. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(1): 102–112. doi: 10.1038/s41556-018-0196-y.
- [3] XIAO Q, GAN Y, LI Y, *et al.* MEF2A transcriptionally upregulates the expression of ZEB2 and CTNNB1 in colorectal cancer to promote tumor progression. *Oncogene*, 2021, 40(19): 3364–3377. doi: 10.1038/s41388-021-01774-w.
- [4] VU T, DATTA P K. Regulation of EMT in colorectal cancer: a culprit in metastasis. *Cancers*, 2017, 9(12): 171. doi: 10.3390/cancers9120171.
- [5] MILLER K D, NOGUEIRA L, MARIOTTO A B, *et al.* Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(5): 363–385. doi: 10.3322/caac.21565.
- [6] YU S K, LUAN Y, TAND S Y, *et al.* Uncovering tumor-promoting roles of activin A in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Adv Sci (Weinh)*, 2023: e2207010. doi: 10.1002/advs.202207010.
- [7] HUANG L, LIU Z, HU J, *et al.* MiR-377-3p suppresses colorectal cancer through negative regulation on Wnt/ β -catenin signaling by targeting XIAP and ZEB2. *Pharmacol Res*, 2020, 156: 104774–104785. doi: 10.1016/j.phrs.2020.104774.
- [8] JI H, SANG M, LIU F, *et al.* miR-124 regulates EMT based on ZEB2 target to inhibit invasion and metastasis in triple-negative breast cancer. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(4): 697–704. doi: 10.1016/j.prp.2018.12.039.
- [9] ZHANG X, XU X, GE G, *et al.* miR-498 inhibits the growth and metastasis of liver cancer by targeting ZEB2. *Oncol Rep*, 2019, 41(3): 1638–1648. doi: 10.3892/or.2018.6948.
- [10] ILIAS G S, DIONYSIOS V C, VENETSANA K, *et al.* EMT factors and metabolic pathways in cancer. *Front Oncol*, 2020, 10: 499. doi: 10.3389/fonc.2020.00499.
- [11] WANG X, LAI Q, HE J, *et al.* LncRNA SNHG6 promotes proliferation, invasion and migration in colorectal cancer cells by activating TGF- β /Smad signaling pathway via targeting UPF1 and inducing EMT via regulation of ZEB1. *Int J Med Sci*, 2019, 16(1): 51–59. doi: 10.7150/ijms.27359.
- [12] LIANG H, YU T, HAN Y, *et al.* LncRNA PTAR promotes EMT and invasion-metastasis in serous ovarian cancer by competitively binding miR-101-3p to regulate ZEB1 expression. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 119. doi: 10.1186/s12943-018-0870-5.
- [13] CIUCIULETE A R, STEPAN A E, BADIU A M, *et al.* E-cadherin, fibronectin and Slug immunoexpression in non-melanoma skin cancers. *Rom J Morphol Embryol*, 2021, 62(3): 705–712. doi: 10.47162/RJME.62.3.07.
- [14] SOMMARIVA M, GAGLIANO N. E-Cadherin in pancreatic ductal adenocarcinoma: a multifaceted actor during EMT. *Cells*, 2020, 9(4): 1040. doi: 10.3390/cells9041040.
- [15] DING L, YANG Y, LU Q, *et al.* Bufalin inhibits tumorigenesis, stemness, and epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer through a C-Kit/Slug signaling axis. *Int J Med Sci*, 2022, 23(21): 13354. doi: 10.3390/ijms232113354.
- [16] YANG Y, FENG M, BAI L, *et al.* Comprehensive analysis of EMT-related genes and lncRNAs in the prognosis, immunity, and drug treatment of colorectal cancer. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 391. doi: 10.1186/s12967-021-03065-0.
- [17] ZENG W, GU S, YU Y, *et al.* ZNF451 stabilizes TWIST2 through SUMOylation and promotes epithelial-mesenchymal transition. *Am J Cancer Res*, 2021, 11(3): 898–915.

(2022 – 11 – 15收稿, 2023 – 04 – 22修回)

编辑 汤洁

