

论著·基础研究

二甲双胍对人绒毛 JAR 细胞上皮-间质转化和侵袭迁移能力的影响

柳光芬¹, 姚春艳²

(1. 武警重庆市消防总队医院检验科, 重庆 401120; 2. 陆军军医大学第一附属医院输血科, 重庆 400038)

摘要:目的 探索二甲双胍对人绒毛 JAR 细胞株上皮-间质转化, 侵袭和迁移能力的影响。方法 使用浓度为 40 mmol/L 的二甲双胍处理人绒毛 JAR 细胞株, 随后分别使用基于 Transwell 小室的实时荧光照相技术和划痕实验分别检测二甲双胍处理前后 JAR 细胞的侵袭和迁移变化; 使用实时荧光定量聚合酶链反应和免疫蛋白印记法检测可能调控上述现象的分子: 腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)、磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶 (p-AMPK)、上皮细胞钙黏蛋白 (E-cadherin)、神经型钙黏蛋白 (N-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin) 的 mRNA 及蛋白变化趋势。结果 二甲双胍处理人绒毛 JAR 细胞株 24 h 后 AMPK 的 mRNA 表达增加, AMPK 总蛋白无明显变化而 p-AMPK 蛋白表达上调。细胞的迁移和侵袭能力减弱, 同时上皮-间质转化分子标志物 E-cadherin 上调, N-cadherin 和 Vimentin 下调, 提示上皮-间质转化能力降低。结论 二甲双胍可以通过磷酸化激活 AMPK 抑制人绒毛 JAR 细胞株的上皮-间质转化, 侵袭和迁移能力。

关键词:二甲双胍; 上皮-间质转化; 侵袭; 迁移

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.14.004

中图法分类号:R737.3

文章编号:1673-4130(2019)14-1677-05

文献标识码:A

Effects of metformin on epithelial-mesenchymal transition, migration and invasion in human choriocarcinoma cell line JAR

LIU Guangfen¹, YAO Chunyan²

(1. Department of Clinical Laboratory, Chongqing Municipal Fire Corps Hospital, Chongqing 401120, China; 2. Department of Blood Transfusion, the First Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of metformin on epithelial-mesenchymal transition (EMT), migration and invasion in human choriocarcinoma cell line JAR. **Methods** The human choriocarcinoma cell line JAR was divided into control and metformin treated (40 mmol/L) groups. Cell migration and invasion ability were determined by the wound healing assay and fluorescent transwell chamber assay. The expression of AMPK, phosphorylated AMPK and EMT-related markers; E-cadherin, N-cadherin and Vimentin were measured by real-time PCR and Western Blot respectively. **Results** The mRNA expression of AMPK was increased, but total AMPK protein was unchanged. However, phosphorylated AMPK (p-AMPK) protein was significantly increased in metformin group compared with control group. The ability of cell migration and invasion were decelerated in metformin group. Epithelial marker E-cadherin was up-regulated and mesenchymal markers N-cadherin and Vimentin were down-regulated after treated with metformin. **Conclusion** AMPK activation may inhibit the EMT, migration and invasion in human choriocarcinoma cell line JAR.

Key words: metformin; epithelial-mesenchymal transition; migration; invasion

人胎盘绒毛癌简称绒癌, 由滋养层细胞癌变而来, 具有高度的增殖和侵袭能力的妇科恶性肿瘤^[1]。在前期研究中发现, 使用 40 mmol/L 二甲双胍可以通过腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK)/雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号通路调控凋亡相关基因 Caspase-3、Bcl-

2 和 Bax 的表达, 促进绒癌细胞凋亡^[2]。既往研究表明, AMPK/mTOR 信号通路也参与调控了肿瘤细胞的上皮间质转化过程 (EMT), 而 EMT 是导致上皮来源的肿瘤细胞向身体其他器官转移的重要原因, 抑制 EMT 能够显著降低肿瘤细胞的转移能力, 提高患者

作者简介:柳光芬, 女, 主任技师, 主要从事分子生物学研究。

本文引用格式:柳光芬, 姚春艳. 二甲双胍对人绒毛 JAR 细胞上皮-间质转化和侵袭迁移能力的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(14): 1677-1680.

的远期生存率^[3-6]。人绒毛为滋养层来源的肿瘤,具有高度的侵袭性,因此如何有效抑制其转移过程是绒癌患者治疗的关键点。本研究以人绒毛癌细胞 JAR 为实验对象,旨在探讨二甲双胍对绒毛癌细胞侵袭和迁移能力的影响,并明确 EMT 通路中上皮细胞钙黏蛋白(E-cadherin)、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)等蛋白的变化趋势和效应方式,为二甲双胍治疗绒癌并抑制其转移提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料 人胎盘绒毛癌细胞系 JAR 购置于中国科学院细胞库。胎牛血清(FBS)购于以色列 BI 公司;1640 培养基购于美国 Gibco 公司;AMPK、磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶(p-AMPK)、E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 等蛋白抗体购于美国 abcam 公司,β-肌动蛋白购于中杉金桥公司。FlouroBlok cell culture transwell 小室购于美国 Corning 公司;Matrigel 胶购于美国 BD 公司。蛋白提取试剂盒及 BCA 蛋白浓度测定试剂盒购于碧云天公司。荧光定量聚合酶链反应(PCR)仪 CFX96 购于美国 Bio-Rad 公司;倒置相差显微镜 TS-100F 购于日本 Nikon 公司;活细胞工作站 Cytation 5 购于美国 Bio-Tek 公司;化学发光成像仪 G:box 购于美国 Gene 公司。

1.2 细胞培养 绒毛癌细胞系 JAR 使用含 10% 胎牛血清和 100 U/mL 青霉素和链霉素的 1640 培养基培养,放置于 5%二氧化碳浓度的饱和湿度培养箱,2~3 d 换液,待细胞密度为 80%左右时使用 0.25%的胰酶消化传代。二甲双胍使用前期研究中筛选的最适浓度 40 mmol/L 处理细胞 24 h,随后进行各项检测,以添加二甲双胍做处理的细胞为实验组,未做任何处理的细胞为对照组。

1.3 划痕实验检测细胞迁移 将 JAR 细胞接种于 6 孔板中,待细胞融合度大于 80%时使用 200 μL 枪头垂直于细胞生长面划出等宽度整齐无细胞带,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗 3 次以去除细胞碎片。随后加入终浓度 40 mmol/L 的二甲双胍到处理细胞,使用倒置显微镜采集培养 0、6、12、24 h 时图像。观察各细胞迁移情况,随机测量 5 点垂直于划痕方向的宽度,计算 5 点的均值作为实验的初始划痕宽度值并计算细胞迁移速率。细胞迁移速率(%)=(初始划痕宽度值-相应点划痕宽度值)/初始划痕宽度值×100%。

1.4 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭能力 使用 FlouroBlok cell culture transwell 小室,在上室的膜上铺 50 μL 的基质胶并待其凝固。使用 Hoechst33242 染色贴壁 JAR 细胞,然后使用胰酶消化并用无血清培养基重悬调整细胞浓度为 1×10⁵ 个/mL。取 200 μL 接种于上室中并加入终浓度为 40 mmol/L 的二甲双胍,下室中加入 700 μL 含 10% FBS 的 1640

培养基持续培养 24 h。使用 BioTek Cytation5 活细胞工作站拍摄 24 h 时穿过聚对苯二甲酸乙二酯(PET)膜的细胞图片,选择 3 个复孔计数细胞并计算均值和标准差。细胞迁移实验不铺设基质胶,其余步骤和侵袭实验相同。

1.5 实时荧光定量聚合酶链反应检测 mRNA 表达变化 二甲双胍处理 JAR 细胞 24 h 后,提取各组细胞 RNA 并逆转录为 cDNA 备用。PCR 引物使用 NCBI 网站上 Primer-BLAST 进行设计,引物序列见表 1,使用 Syber-green 法检测的 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 和 AMPK 的 mRNA 表达水平,并用甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参。把对照组 mRNA 的表达量设为 1,根据 2^{-ΔΔCt} 计算实验组 mRNA 相对表达量的变化。

表 1 基因引物信息

基因	引物序列	产物长度 (bp)
E-cadherin	上游:CCC AGG AGC CAG ACA CAT TT	165
	下游:TTA GGG CTG TGT ACG TGC TG	
N-cadherin	上游:TTG CCA GAA AAC TCC AGG GG	99
	下游:TGG CCC AGT TAC ACG TAT CC	
Vimentin	上游:GGT GCA ATC GTG ATC TGG GA	95
	下游:GTC TTT GCT CGA ATG TGC GG	
AMPK	上游:ACA GCC GAG AAG CAG AAA CA	93
	下游:CTT CAC TTT GCC GAA GGT GC	
GAPDH	上游:CAG GAG GCA TTG CTG ATG AT	138
	下游:GAA GGC TGG GGC TCA TTT	

1.6 免疫蛋白印记法检测蛋白变化 提取细胞总蛋白后使用二喹啉甲酸(BCA)法对其定量,等量蛋白 40 μg 上样进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,湿转法将蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜(PVDF)膜上。AMPK、p-AMPK、E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin 等蛋白抗体浓度均为 1:1 000,GAPDH 浓度为 1:2 000。一抗 4 ℃过夜后二抗(1:5 000)室温孵育 1 h 后采用化学发光法系统显色,使用 Bio-rad 软件分析各条带的灰度值。

1.7 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件分析数据,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-q 检验。计数资料以百分率(%)表示,组间比较用 χ^2 分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 二甲双胍抑制 JAR 细胞迁移 使用前期实验筛选的最佳作用浓度 40 mmol/L 的二甲双胍处理,发现对照组随着时间的推移,细胞间的划痕逐渐愈合;6~12 h 的二甲双胍处理对 JAR 细胞迁移率无明显

影响和对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$);24 h 的二甲双胍能够有效抑制 JAR 细胞的迁移速率,实验组和对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1、2。

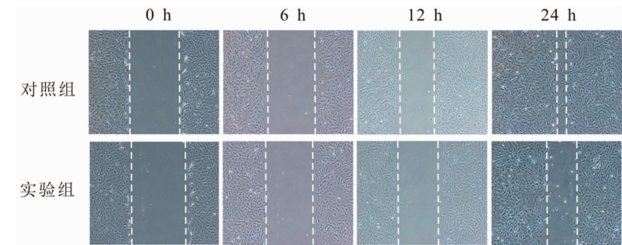
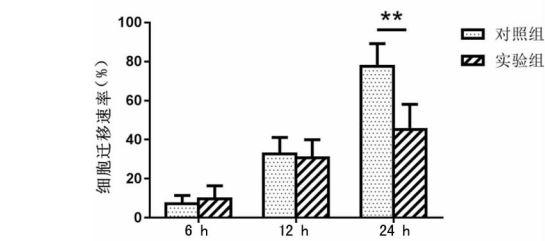


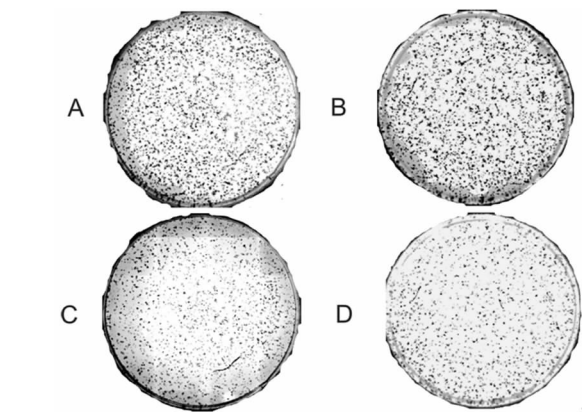
图 1 划痕实验检测对照组和实验组的迁移能力



注: ** $P<0.05$, 与对照组比较

图 2 二甲双胍对细胞迁移能力的影响

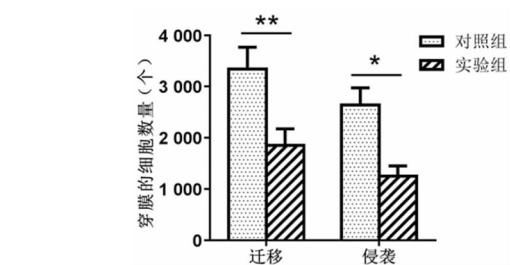
2.2 二甲双胍处理对细胞侵袭和迁移能力的影响 使用 40 mmol/L 的二甲双胍处理荧光标记细胞核并采集穿过 PET 膜的细胞图像,进行整板扫描并拼接每个视野以便得到整张 PET 膜的图像,使用软件自动计数分析每张膜上的细胞数。发现侵袭实验中对对照组细胞数为($2\,638\pm337$)个,二甲双胍处理可以减少穿膜细胞数为($1\,251\pm201$)个,差异有统计学意义($P<0.05$);迁移实验中对对照组细胞数为($3\,341\pm428$)个,二甲双胍处理能够显著抑制迁移过 PET 膜的细胞数量,对照组穿膜细胞数为($1\,852\pm324$)个,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 3、4。



注:A. 对照组迁移;B. 对照组侵袭;C. 实验组迁移;D. 实验组侵袭
图 3 Transwell 小室检测对照组和实验组侵袭和迁移能力

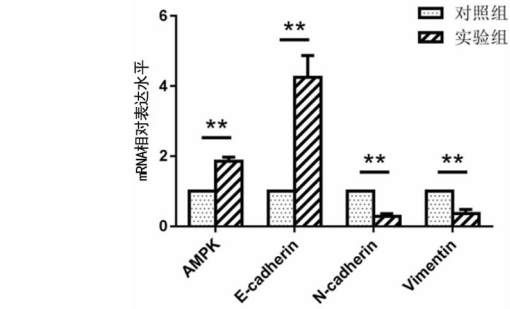
2.3 二甲双胍调控侵袭迁移相关基因表达 使用荧光定量 PCR 检测二甲双胍处理前后可能参与肿瘤细胞侵袭和迁移能力的相关基因 mRNA 的表达。发现

二甲双胍能够增加 AMPK 的 mRNA 表达($P<0.05$),同时显著上调 EMT 相关基因 E-cadherin($P<0.05$);下调 N-cadherin($P<0.05$)和 Vimentin($P<0.05$)的表达,提示二甲双胍能够调控 EMT 相关基因 mRNA 表达。见图 5。



注: * $P<0.05$, 与对照组比较; ** $P<0.05$, 与对照组比较

图 4 二甲双胍处理对细胞侵袭和迁移能力的影响



注: ** $P<0.05$, 与对照组比较

图 5 二甲双胍对 AMPK 和 EMT 相关基因 mRNA 表达的影响

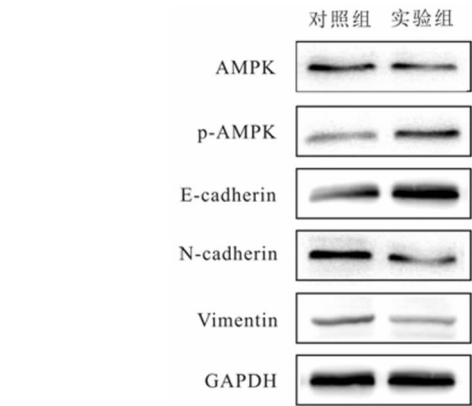
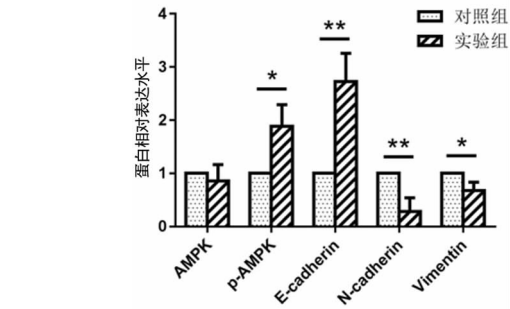


图 6 实验组和对照组的蛋白表达变化



注: * $P<0.05$, 与对照组比较; ** $P<0.05$, 与对照组比较

图 7 二甲双胍对 AMPK 和 EMT 相关蛋白表达的影响

2.4 二甲双胍调控侵袭迁移相关蛋白表达 使用免疫蛋白印记法技术检测二甲双胍处理前后参与肿瘤细胞侵袭和迁移能力的相关蛋白的变化情况。发现其 AMPK 总蛋白水平没有明显变化,促进 AMPK Thr172 位点的磷酸化($P<0.05$);同时上调 EMT 相关蛋白 E-cadherin($P<0.05$),下调 N-cadherin($P<0.05$)、Vimentin($P<0.05$)的表达,从而抑制上皮间质转化的过程。见图 6、7。

3 讨 论

人绒癌细胞系 JAR 是一种胚胎滋养层上皮来源并且具有高度的侵袭能力恶性肿瘤细胞,其患者最终往往死于肿瘤细胞的脑转移,有报道指出 EMT 可能是主导绒癌细胞侵袭和转移的主要因素^[7]。在前期研究中发现二甲双胍可以促进绒癌细胞凋亡的发生^[2,8],并初步阐明其通过 AMPK/mTOR 信号通路调控绒癌细胞凋亡的分子机制。进一步分析文献发现,AMPK 可以抑制 EMT 过程并逆转肿瘤细胞的间质表型^[9-10],从而抑制肿瘤细胞的转移。因此,本研究拟探索二甲双胍对绒癌细胞 EMT,迁移和侵袭能力的影响及可能的分子机制,以期二甲双胍的抗肿瘤治疗提供新的思路和方法。

侵袭和转移的能力是肿瘤细胞典型特征之一^[11],也是恶性肿瘤难以根治的原因,在此过程中 EMT 扮演着十分重要的角色。有研究表明,E-cadherin 向 N-cadherin 转化是 EMT 发生的重要机制,E-cadherin 下调或缺失会导致上皮细胞极性消失、细胞间的黏附能力减弱,从而获得间质细胞表型^[12-13]。E-cadherin 和 N-cadherin 这种此消彼长的关系随着肿瘤病理分级的增高非常明显^[14]。Vimentin 也是 EMT 的重要标志物,Vimentin 只在间质细胞中特异表达,因此肿瘤细胞表达 Vimentin 则提示其为间质细胞肿瘤。本研究发现,二甲双胍能够上调 E-cadherin,同时下调 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白的表达,抑制绒癌 JAR 细胞迁移和侵袭能力。提示二甲双胍可以通过逆转绒癌 JAR 细胞 EMT 的表型从而抑制其转移的发生。

二甲双胍是一种临床上常用的 AMPK 激活剂,本研究发现,其在抑制绒癌 JAR 细胞 EMT 的过程中,促进了 p-AMPK Thr172 的磷酸化。AMPK 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,能够增加细胞的分解代谢从而产生大量 ATP,因此 AMPK 信号通路是非常经典的细胞代谢调控通路^[15]。目前,多项研究表明二甲双胍激活 AMPK 后能够通过多种下游调节因子影响肿瘤细胞的 EMT 过程;在甲状腺癌中 mTOR 处于活化状态,经过二甲双胍处理能够抑制 mTOR 及其下游 p70s6k 和 4E-BP1 的磷酸化,从而抑制 EMT 过程^[16]。此外二甲双胍也通过 mTOR 下调肾癌细胞自噬而达到抑制 EMT 的作用^[17];另一方面,二甲双胍

激活 AMPK 后可以抑制 ERK 信号通路的活化,影响 SNAI 家族成员 snail 和 slug 的表达从而上调 E-cadherin 进而抑制 EMT 的发生^[18];二甲双胍还能够激活 AMPK 并影响细胞内部活性氧及还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4(NADPH oxidase 4),从而抑制细胞 EMT 的进程,活化后的 AMPK 还能够抑制 TGF- β 、血管收缩素 2、醛固酮及清蛋白等诱导的 EMT^[19]。

4 结 论

本研究发现,二甲双胍能够抑制绒癌 JAR 细胞株侵袭和迁移的能力。其可能涉及的分子是二甲双胍使 AMPK 磷酸化激活,上调 E-cadherin 并下调 N-cadherin 和 Vimentin,以实现逆转 EMT 的发生。结合前期研究中二甲双胍通过 AMPK/mTOR 通路促进绒癌细胞凋亡,提示二甲双胍促进绒癌细胞凋亡、抑制侵袭和转移,为下一步临床试验提供了理论和实验基础。

参考文献

- [1] IVANOVA K, ANANIEV J, ALEKSANDROV A, et al. Expression of E-cadherin/Beta-catenin in epithelial carcinomas of thyroid gland[J]. Open Access Maced J Med Sci, 2017, 5(2):155-159.
- [2] 柳光芬, 姚春艳. 二甲双胍诱导人胎盘绒毛癌细胞系 JAR 凋亡的机制初探[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(7): 859-862.
- [3] CHOU C C, LEE K H, LAI I L, et al. AMPK reverses the mesenchymal phenotype of cancer cells by targeting the Akt-MDM2-Foxo3a signaling axis[J]. Cancer Res, 2014, 74(17):4783-4795.
- [4] VALASTYAN S, WEINBERG R A. Tumor metastasis: Molecular insights and evolving paradigms [J]. Cell, 2011, 147(2):275-292.
- [5] DING X M. MicroRNAs: regulators of cancer metastasis and epithelial-mesenchymal transition (EMT)[J]. Chin J Cancer, 2014, 33(3):140-147.
- [6] OMROATO L, MALANCHI I. The EMT universe: space between cancer cell dissemination and metastasis initiation [J]. Crit Rev Oncog, 2014, 19(5):349-361.
- [7] LEE H M, KIM S M, CHOI K C. Treatment of human placental choriocarcinoma cells with formaldehyde and benzene induced growth and epithelial mesenchymal transition via induction of an antioxidant effect[J]. Int J Environ Res Public Health, 2017, 14(8):854.
- [8] 柳光芬. 二甲双胍对人绒毛膜癌细胞凋亡的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 37(23):3280-3282.
- [9] 苗雨, 陈芙蓉, 王振川, 等. AMPK 激活对人胃癌 SGC7901 细胞上皮-间质转化和迁移侵袭能力的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2017, 39(10):1147-1158.
- [10] LIU Z, QI S, ZHAO X, et al. Metformin(下转第 1685 页)

- [8] BRAUNWALD E, BRISTOW M R. Congestive heart failure: fifty years of progress[J]. *Circulation*, 2000, 102(4): 14-23.
- [9] HUNT S A, BAKER D W, CHIN M H, et al. ACC/AHA guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult; executive summary; a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guide)[J]. *J Heart Lung Trans*, 2002, 21(2): 189-203.
- [10] 贺涛, 唐艺加, 李刚, 等. 胱抑素 C 水平与冠心病的相关性研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2012, 14(3): 264-267.
- [11] 王金花, 李建国. 胱抑素 C 的临床应用进展[J]. *中国医药指南*, 2018, 16(24): 17-26.
- [12] SARNAK M J, KATZ R, STEHMAN-BREEN C O, et al. Cystatin C concentration as a risk factor for heart failure in older adults[J]. *Ann Intern Med*, 2005, 142(7): 497-505.
- [13] 杨兴虎, 王启贤. Cystatin C 与心血管疾病关系的研究进展[J]. *临床医学*, 2012, 32(12): 105-108.
- [14] SOTO K, CAMPOS P, PINTO I, et al. The risk of chronic kidney disease and mortality are increased after community-acquired acute kidney injury[J]. *Kidney Inter*, 2016, 90(5): 1090-1099.
- [15] 梁继铁, 郭应军. N 末端 B 型利钠肽原和胱抑素 C 联合检测对 II 型心肾综合征的诊断价值[J]. *右江民族医学院学报*, 2014, 36(2): 175-177.
- [16] SIGRID B, ENDRE W G, ROSTRUP N E, et al. Urine biomarkers give early prediction of acute kidney injury and outcome after out-of-hospital cardiac arrest[J]. *Critical Care*, 2016, 20(1): 314.
- [17] 赵艳辉, 丛洪良. 心衰患者血清胱抑素 C、嗜铬粒蛋白 A 与心室重构的关系[J]. *天津医科大学学报*, 2015, 21(3): 193.
- [18] 张烁. 慢性心力衰竭患者血清胱抑素 C 水平与心室重塑的相关性研究[D]. 芜湖: 皖南医学院, 2014.
- [19] ZAMORA E, JOSEP L, ANTONIO M D, et al. Limited value of cystatin-C over estimated glomerular filtration rate for heart failure risk stratification[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e51234.
- [20] 易志刚, 郭文安, 吴娟, 等. 血清胱抑素 C 水平与缺血性心力衰竭患者近期预后之间的相关性[J]. *中外医学研究*, 2016, 14(35): 42-44.
- [21] 吴晓东, 齐新, 侯文广, 等. 慢性心力衰竭患者血清胱抑素 C 水平变化及临床意义[J]. *天津医药*, 2015, 43(10): 1162-1165.
- [22] 李雷花, 孙俊红. 血清 HCY、CysC、NT-proBNP、D-dimer 联合检测在慢性心力衰竭诊断及预后评估中的价值[J]. *实验与检验医学*, 2018, 36(3): 427-430.

(2019-01-06 修回日期: 2019-03-14)

(上接第 1680 页)

- inhibits 17 β -estradiol-induced epithelial-to-mesenchymal transition via β Klotho-related ERK1/2 signaling and AMPK α signaling in endometrial adenocarcinoma cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(16): 21315-21331.
- [11] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674.
- [12] GUAN X, BIDLACK F B, STOKES N, et al. E-cadherin can replace N-cadherin during secretory-stage enamel development[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102153.
- [13] KOURTIDIS A, LU R, PENCE L J, et al. A central role for cadherin signaling in cancer[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 358(1): 78-85.
- [14] YUN J A, KIM S H, HONG H K, et al. Loss of E-Cadherin expression is associated with a poor prognosis in stage III colorectal cancer[J]. *Oncology*, 2014, 86(5/6): 318-328.
- [15] BANERJEE P, SURENDRAN H, CHOWDHURY D R, et al. Metformin mediated reversal of epithelial to mesenchymal transition is triggered by epigenetic changes in E-cadherin promoter[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2016, 94(12): 1397-1409.
- [16] HAN B, CUI H, KANG L, et al. Metformin inhibits thyroid cancer cell growth, migration, and EMT through the mTOR pathway[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(8): 6295-6304.
- [17] ZHANG Y, FAN Y, HUANG S, et al. Thymoquinone inhibits the metastasis of renal cell cancer cells by inducing autophagy via AMPK/mTOR signaling pathway[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(12): 3865-3873.
- [18] DE HERREROS A G, PEIRO S, NASSOUR M, et al. Snail family regulation and epithelial mesenchymal transitions in breast cancer progression[J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2010, 15(2): 135-147.
- [19] LEE J H, KIM J H, KIM J S, et al. AMP-activated protein kinase inhibits TGF- β -, angiotensin II-, aldosterone-, high glucose-, and albumin-induced epithelial-mesenchymal transition[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 304(6): 686-697.

(收稿日期: 2018-12-01 修回日期: 2019-03-28)