

• 论 著 •

Skp2 通过调控 Snail 水平对上皮性卵巢癌细胞 EMT 的作用研究

徐小丽, 李 青[△], 陈 彬

安徽省安庆市立医院妇产科, 安徽安庆 246001

摘 要:目的 探讨 S 期激酶相关蛋白 2(Skp2)通过调控转录因子 Snail 水平对上皮性卵巢癌细胞上皮间质转化(EMT)的作用。方法 分别检测 15 例上皮性卵巢癌组织和正常卵巢组织中 Skp2 和 Snail mRNA 水平;体外培养 SKOV3 细胞,将其分为阴性对照组(只加脂质体)、Skp2 干扰表达组(加 Skp2 干扰表达载体和脂质体)、Skp2 过表达组(加 Skp2 过表达载体和脂质体),采用 Lipofectamine 法分别将脂质体、Skp2 干扰表达载体和 Skp2 过表达载体转染到 SKOV3 细胞中,检测细胞中 Skp2、Snail、E-cadherin 和 Vimentin mRNA 和蛋白表达情况,同时检测细胞体外侵袭、迁移能力。结果 Skp2 mRNA 在卵巢癌组织中的表达水平明显低于正常卵巢组织,Snail mRNA 在卵巢癌组织中的表达水平明显高于正常卵巢组织($P < 0.05$)。与阴性对照组相比,Skp2 干扰表达组细胞中 Skp2、E-cadherin mRNA 和蛋白表达水平降低,侵袭细胞数和迁移细胞数以及 Snail、Vimentin mRNA 和蛋白表达水平增加($P < 0.05$);与 Skp2 干扰表达组相比,Skp2 过表达组细胞中 Skp2、E-cadherin mRNA 和蛋白表达水平增加,侵袭细胞数和迁移细胞数以及 Snail、Vimentin mRNA 和蛋白表达水平降低($P < 0.05$)。结论 Skp2 通过降低 Snail 水平,抑制上皮性卵巢癌细胞 EMT,这可能是抑制卵巢癌细胞侵袭和迁移的新靶点。

关键词: S 期激酶相关蛋白 2; Snail; 上皮性卵巢癌; 上皮间质转化

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.02.023

中图法分类号: R737.31

文章编号: 1673-4130(2021)02-0226-05

文献标志码: A

Effect of Skp2 on EMT of epithelial ovarian cancer cells by regulating Snail level

XU Xiaoli, LI Qing[△], CHEN Bin

Department of Obstetrics and Gynecology, Anqing Municipal

Hospital, Anqing, Anhui 246001, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of S-phase kinase associated protein 2 (Skp2) on epithelial mesenchymal transitions (EMT) of epithelial ovarian cancer cells by regulating the transcription factor Snail level. **Methods** The mRNA levels of Skp2 and Snail in epithelial ovarian cancer tissues and normal ovarian tissues in 15 cases of epithelial ovarian cancer were detected respectively. SKOV3 cells were cultured in vitro and divided into the negative control group (only adding liposomes), Skp2 interference expression group (adding Skp2 interference expression vector and liposomes) and Skp2 overexpression group (adding Skp2 overexpression vector and liposomes). The Lipofectamine method was used to transfect liposomes, Skp2 interference expression vector and Skp2 overexpression vector into SKOV3 cells. The expression of Skp2, Snail, E-cadherin and Vimentin mRNA and protein in SKOV3 cells were detected, and the ability of cell invasion and metastasis in vitro were simultaneously detected. **Results** The expression level of Skp2 mRNA in ovarian cancer tissue was significantly lower than that in normal ovarian tissue, and the expression level of Snail mRNA in ovarian cancer tissue was significantly higher than that in normal ovarian tissue ($P < 0.05$). Compared with the negative control group, the mRNA and protein expression levels of Skp2, E-cadherin in the Skp2 interference expression group were decreased, and the number of invaded cells and migrating cells, and the mRNA and protein expression levels of Snail, Vimentin were increased ($P < 0.05$). Compared with the Skp2 interference expression group, the mRNA and protein expression levels of Skp2 and E-cadherin in the Skp2 overexpression group were increased, the number of invaded cells and migrating cells, and the mRNA and protein expression levels of Snail and Vimentin were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Skp2 suppresses the EMT of epithelial ovarian cancer cells by reducing the Snail level, which may be a new target for inhibiting

作者简介: 徐小丽,女,主治医师,主要从事妇科肿瘤研究。 [△] **通信作者,** E-mail: 1224563438@qq.com。

本文引用格式: 徐小丽,李青,陈彬. Skp2 通过调控 Snail 水平对上皮性卵巢癌细胞 EMT 的作用研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(2):

the invasion and metastasis of ovarian cancer cells.

Key words: S-phase kinase associated protein 2; Snail; epithelial ovarian cancer; epithelial-mesenchymal transition

卵巢癌致病机制复杂,在疾病早期难以诊断,超过 70% 的卵巢癌患者在晚期(Ⅲ或Ⅳ期)被发现,同时,卵巢癌细胞通常对化学治疗药物具有抗性,导致患者整体生存率急剧下降^[1-2]。卵巢癌是上皮性肿瘤,具有高度转移性,与其他肿瘤细胞不同,由于没有解剖屏障,卵巢癌细胞可以直接扩散到腹腔,而不通过血液扩散^[3]。在卵巢癌的发生和发展过程中,上皮间质转化(EMT)是其中的关键过程^[4]。E-钙黏蛋白(E-cadherin)的表达抑制被认为是 EMT 过程中的一个基本事件,许多细胞因子如转录因子 Snail、锌指 E 框结合同源框 1/2 (ZEB1/2) 和样转录因子 8 (KLF8) 等可直接与 E-cadherin 启动子区结合而抑制其转录^[5-6]。Snail 在 EMT 的调控过程中起关键作用,包括 E-cadherin 的水平降低,以及波形蛋白(Vimentin 蛋白)和纤连蛋白(Fibronectin)等生物标志物水平的升高。S 期激酶相关蛋白 2(Skp2)是近年发现的一种 F-box 蛋白,可以直接降解 Snail,在许多晚期癌症(包括卵巢癌)中发现其低表达^[7]。体外研究显示,Skp2 过表达可抑制腺癌或鳞状细胞癌细胞系的迁移和侵袭^[8]。同时,卵巢癌中 Skp2 的低表达与 E-cadherin 的丢失有关,表明发生了 EMT^[9]。然而,Skp2 在 EMT 中的分子机制尚不清楚。因此,本研究探讨 Skp2 通过调控 Snail 水平在抑制上皮性卵巢癌细胞 EMT 方面的作用,以为卵巢癌的治疗提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 材料 分别收集 15 例上皮性卵巢癌组织和正常卵巢组织。所有研究对象均未接受放疗或化疗,切除后立即将标本放液氮中保存。所有标本均经病理学确诊,所有研究对象对本研究均知情同意并签署知情同意书,同时本研究获得本院医学伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 上皮性卵巢癌 SKOV3 细胞(中国科学院上海细胞研究所),胎牛血清和 RPMI-1640 培养基(美国 Gibco 公司),脂质体 Lipofectamine2000 (美国 Invitrogen 公司),Skp2 干扰表达载体(5'-CCGGGATAGTGTCATGCTAAAGAATCTCGAGATTCTTTAGCATGACACTATCTTTTTTG-3',广州锐博公司设计与合成)和 Skp2 过表达载体(5'-CCGGGCCTAAGCTAAATCGAGAGAACTGAGTTCTCTCGATTTAGCTTAGGCTTTTTTG-3',广州锐博公司设计与合成),Lipofectamine2000 转染试剂盒(美国 Invitrogen 公司),TRIzol(美国 Invitrogen 公司),RNA 反转录试剂盒,实时荧光定量聚合酶链反

应(RT-PCR)试剂盒(宝生物工程有限公司)。PCR 引物序列由大连 TaKaRa 公司设计及合成:Skp2 上游引物为 5'-ATAAGCTTATGCACAGGAAGCA-CCCTCCAGG-3',下游引物为 5'-AAGAATTCTCATAGACAACGGGCTTTTGC-3';Snail 上游引物为 5'-TCCAGAGTTTACCTTCCAGCA-3',下游引物为 5'-CTTTCCCACTGTCCTCATCTG-3';E-cadherin 上游引物为 5'-GCTGCTCTTGCTGTTTCTTCG-3',下游引物为 5'-CCGCTCCTTCTTCATCATAG-3';Vimentin 上游引物为 5'-AAGTTTGCTGACCTCTCTGAGGCT-3',下游引物为 5'-CTTCCATTTCACGCATCTGGCGTT-3';U6 上游引物为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物为 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。RIPA 裂解液(上海生工生物工程有限公司),Skp2、Snail、E-cadherin、Vimentin、 β -actin 鼠抗和辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗鼠 IgG 二抗(美国 Santa Cruz 公司),电化学发光(ECL)试剂盒(美国 GE 公司),二氧化碳细胞培养箱(美国 Thermo Revco 公司),24 孔 Transwell 小室(美国 Corning 科技有限公司),Nano-Drop2000c 型蛋白核酸检测仪(美国 Thermo 公司),实时荧光定量 PCR 仪和 BIO-RAD 垂直电泳仪(美国 BIO-RAD 公司),凝胶成像仪(美国 UVP 公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞分组及转染 将实验对象分为阴性对照组(只加脂质体)、Skp2 干扰表达组(加 Skp2 干扰表达载体和脂质体)、Skp2 过表达组(加 Skp2 过表达载体和脂质体)。将含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基在 37℃、5%CO₂ 环境中培养 SKOV3 细胞,选取对数生长期的细胞进行实验。对 SKOV3 细胞进行离心后接种于 6 孔板中,待细胞生长后更换为无血清培养液(RPMI-1640),分别用 Lipofectamine 法将脂质体、Skp2 干扰表达载体和 Skp2 过表达载体转染到 SKOV3 细胞中,转染 6 h 后更换为含血清培养液(RPMI-1640)继续培养 48 h 收获细胞,进行相关检测。

1.3.2 RT-PCR 法检测组织中 Skp2、Snail mRNA,以及细胞中 Skp2、Snail、E-cadherin 和 Vimentin mRNA 的表达 阴性对照组、Skp2 干扰表达组和 Skp2 过表达组细胞转染成功后以 5×10⁴/孔接种于 6 孔板内(3 毫升/孔),继续培养 48 h 收获细胞,使用 TRIzol 提取总 RNA,测定 mRNA 的水平 and 纯度,根据 RNA 反转录试剂盒说明书将提取的总 RNA 反转录为 cDNA,根据 RT-PCR 试剂盒说明书,制备 20 μ L

反应体系。在 RT-PCR 仪中进行扩增,反应条件为预变性 95 ℃ 30 s、变性 95 ℃ 5 s、60 ℃ 44 s、40 个循环,61 ℃ 时采集荧光,用 RT-PCR 仪进行检测并对其表达量进行分析。以 U6 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 Skp2、Snail、E-cadherin 和 Vimentin mRNA 的相对表达量(正常卵巢组织和卵巢癌组织标本只进行 Skp2 和 Snail mRNA 的检测)。每组试验重复 3 次。

1.3.3 Transwell 法检测细胞体外侵袭、迁移能力 各组细胞转染成功后以 5×10^5 /mL 接种在 24 孔 Transwell 小室中(200 微升/孔),下室加入含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液,继续培养 48 h,取出小室,用无菌棉签擦拭去除上室内的细胞,用 4% 甲醛固定 10 min,用 0.1% 结晶紫染液染色 30 min,冲洗干净后于倒置显微镜下观察细胞并拍照。计数染成紫色的穿膜细胞(代表细胞侵袭和迁移能力)。每组试验重复 3 次。

1.3.4 免疫印迹(western blot)法检测 Skp2、Snail、E-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达 各组细胞转染成功后以 5×10^4 /孔接种于 6 孔板内(3 毫升/孔),继续培养 48 h 收获细胞,加入 RIPA 裂解液,冰浴 2 h。离心取上清液进行蛋白定量。调整蛋白水平,沸水进行变性。进行电泳(每孔上样量为 20 μ g),将膜与 Skp2(1 : 200)、Snail(1 : 500)、E-cadherin(1 : 400)、Vimentin(1 : 500)和 β -actin(1 : 1 000)抗体进行孵育,4 ℃ 过夜,将 IgG 二抗(1 : 5 000)在室温下孵育 30 min。进行显色,采集图像,通过 Image Lab™ 软件(Bio-Rad)获取信号并估计强度,以 β -actin 作为内对照。每组试验重复 3 次。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计软件进行统

计分析。正态分布计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用多样本均数的方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 正常卵巢组织和卵巢癌组织中 Skp2 和 Snail mRNA 的表达情况 Skp2 mRNA 在卵巢癌组织中的表达水平明显低于正常卵巢组织、Snail mRNA 在卵巢癌组织中的表达水平明显高于正常卵巢组织,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 正常卵巢组织和卵巢癌组织中 Skp2 和 Snail mRNA 的表达情况($\bar{x}\pm s$)

项目	<i>n</i>	Skp2	Snail
正常卵巢组织	15	1.00±0.05	1.00±0.12
卵巢癌组织	15	0.44±0.13 ^a	1.77±0.13 ^a

注:与正常卵巢组织相比,^a $P<0.05$ 。

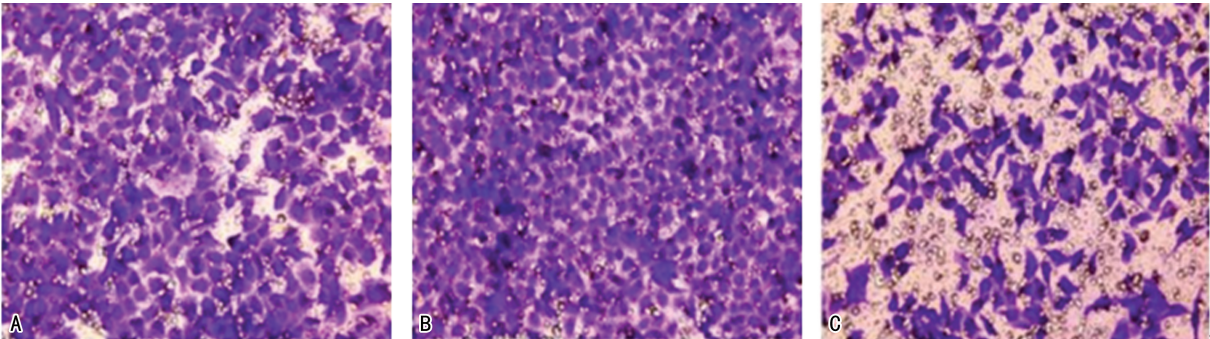
2.2 3 组细胞中 Skp2、Snail、E-cadherin 和 Vimentin mRNA 表达情况 与阴性对照组相比,Skp2 干扰表达组细胞中 Skp2 和 E-cadherin mRNA 表达水平降低,Snail 和 Vimentin mRNA 表达水平升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与 Skp2 干扰表达组相比,Skp2 过表达组细胞中 Skp2 和 E-cadherin mRNA 表达水平升高,Snail 和 Vimentin mRNA 表达水平降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 3 组细胞侵袭、迁移能力 与阴性对照组相比,Skp2 干扰表达组侵袭细胞数和迁移细胞数增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与 Skp2 干扰表达组相比,Skp2 过表达组侵袭细胞数和迁移细胞数降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 1~2、表 3。

表 2 3 组细胞中 Skp2、Snail、E-cadherin 和 Vimentin mRNA 表达情况($\bar{x}\pm s$)

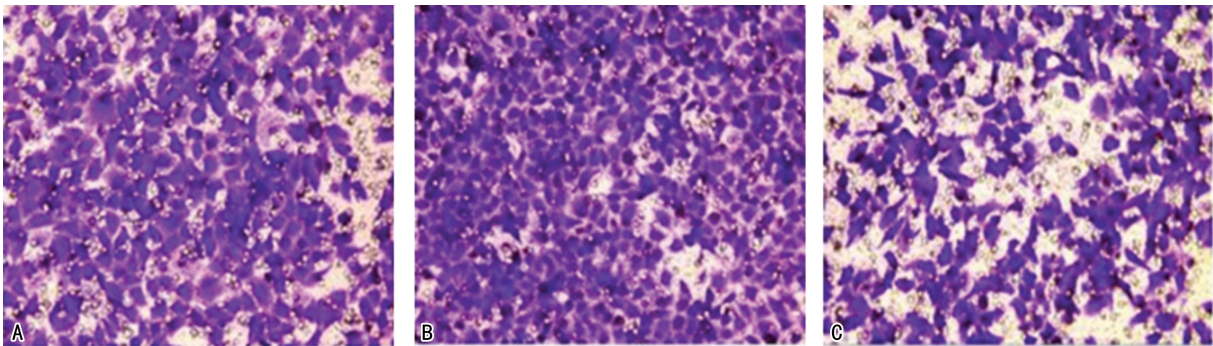
组别	重复次数(<i>n</i>)	Skp2	Snail	E-cadherin	Vimentin
阴性对照组	3	1.00±0.08	1.00±0.12	1.00±0.05	1.00±0.03
Skp2 干扰表达组	3	0.57±0.09 ^a	1.49±0.11 ^a	0.63±0.15 ^a	1.54±0.09 ^a
Skp2 过表达组	3	1.83±0.05 ^{ab}	0.75±0.08 ^{ab}	1.46±0.07 ^{ab}	0.83±0.04 ^{ab}

注:与阴性对照组相比,^a $P<0.05$;与 Skp2 干扰表达组相比,^b $P<0.05$ 。



注:A 为阴性对照组;B 为 Skp2 干扰表达组;C 为 Skp2 过表达组。

图 1 3 组细胞侵袭情况



注:A 为阴性对照组;B 为 Skp2 干扰表达组;C 为 Skp2 过表达组。

图 2 3 组细胞迁移情况

表 3 3 组细胞侵袭、迁移能力($\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数(n)	侵袭细胞数(个)	迁移细胞数(个)
阴性对照组	3	241.29±62.41	264.59±33.51
Skp2 干扰表达组	3	372.24±57.83 ^a	335.21±47.50 ^a
Skp2 过表达组	3	84.58±17.52 ^{ab}	7.34±4.12 ^{ab}

注:与阴性对照组相比,^a $P<0.05$;与 Skp2 干扰表达组相比,^b $P<0.05$ 。

2.4 3 组细胞中 Skp2、Snail、E-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达情况 与阴性对照组相比,Skp2 干扰表达组细胞中 Skp2 和 E-cadherin 蛋白表达水平降低,Snail 和 Vimentin 蛋白表达水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与 Skp2 干扰表达组相比,Skp2 过表达组细胞中 Skp2 和 E-cadherin 蛋白表达水平升高,Snail 和 Vimentin 蛋白表达水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4、图 3。

表 4 3 组细胞中 Skp2、Snail、E-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达情况($\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数(n)	Skp2	Snail	E-cadherin	Vimentin
阴性对照组	3	0.37±0.05	1.84±0.23	0.67±0.09	0.75±0.06
Skp2 干扰表达组	3	0.24±0.03 ^a	2.73±0.30 ^a	0.19±0.04 ^a	1.40±0.13 ^a
Skp2 过表达组	3	0.51±0.07 ^{ab}	0.32±0.05 ^{ab}	1.08±0.26 ^{ab}	0.61±0.09 ^{ab}

注:与阴性对照组相比,^a $P<0.05$;与 Skp2 干扰表达组相比,^b $P<0.05$ 。

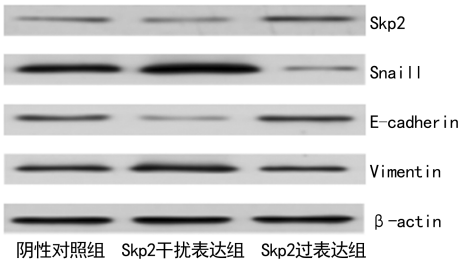


图 3 western blot 法结果

3 讨 论

上皮性卵巢癌的高致死率很大程度上是由于高侵袭性和易于局部及远端转移造成的,其中 EMT 起着实质性的作用。在肿瘤进展过程中,卵巢癌细胞 EMT 表现为上皮细胞特异性标志物如 E-cadherin、闭锁蛋白 1(ZO-1)等表达下调,而间充质细胞特异性标志物如 Vimentin 蛋白、N-钙黏蛋白(N-cadherin)等表达增加为特征,这意味着 EMT 是卵巢癌进展的先决条件^[10]。E-cadherin 表达下调是 EMT 的特征性改变,主要受转录因子 Snail 的调控,是癌细胞侵袭的前提条件。Snail 可以与 E-cadherin 启动子中的 E-BOX 结合,抑制其转录^[11]。因此,调控 EMT 相关

因子可能为卵巢癌的治疗提供新的线索。

Skp2 是一种 E3 泛素连接酶^[12],调控多种肿瘤抑制因子水平,包括 p27 和叉头状转录因子 O1 (FOXO1)^[12]。Skp2 低表达在包括卵巢癌在内的多种人类癌症中经常被观察到,然而,Skp2 与 EMT 的相关性尚不清楚^[13]。本研究探讨了 Skp2 通过调控 Snail 水平在抑制上皮性卵巢癌细胞 EMT 方面的作用。结果表明,Skp2 在卵巢癌组织中表达明显降低,且在其卵巢癌中水平升高则会抑制 Snail 的表达,从而抑制卵巢癌细胞的侵袭性。同时,有研究显示,Skp2 对 Snail 表达有抑制作用,而 Snail 对 Skp2 表达无明显影响^[14],表明 Snail 是 Skp2 的下游因子。Snail 被认为是 EMT 中的转录因子。为了进一步支持上述结果,笔者进一步探讨了 Skp2 在 SKOV3 细胞侵袭、迁移中的作用,结果表明,Skp2 抑制了 SKOV3 细胞的侵袭和迁移。

有研究者提出了一个有关 EMT 的全面监管网络,以强调 Skp2 的关键作用^[14]。然而尚不清楚 EMT 过程中 Skp2 发挥作用的确切机制,在某些情况下,Skp2 低表达与 E-cadherin 低表达相关^[15]。有研

究报道, Skp2 主要充当肝癌细胞中与 EMT 相关的抑制因子, 并与基质金属蛋白酶结合抑制其侵袭性, 但这些因子与 EMT 之间的关系尚未确定^[16]。此外, 磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)信号通路的激活导致 E-cadherin 表达下调和间充质标志物表达的上调。糖原合成酶激酶 3 β (GSK-3 β)通过磷酸化的机制下调 Snail 来抑制 EMT, 而 PI3K/AKT 通过 GSK-3 β 失活, 稳定 Snail 来促进 EMT^[17-18]。本研究观察到促进 Skp2 表达可以使 Snail 蛋白水平降低, 抑制卵巢癌细胞 EMT, 而抑制 Skp2 表达则作用相反。上述结果对于在 EMT 中建立 Skp2 的功能网络非常有意义, 但本研究没有对 Skp2 相关机制进行研究, 说服力较欠缺。

综上所述, Skp2 在上皮性卵巢癌组织中低表达, 它在卵巢癌细胞迁移、侵袭和 EMT 的调控中起重要作用。通过基因干预技术促进 Skp2 的表达可以降低 SKOV3 细胞中 Snail 表达, 抑制 EMT, 而抑制 Skp2 表达则作用相反。

参考文献

- [1] 李娜, 熊姣, 王东红. 基于 miR-1285 在卵巢癌组织中的表达及对癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 重庆医学, 2018, 47(16): 2144-2147.
- [2] UKAWA S, TAMAKOSHI A, MORI M, et al. Association between average daily television viewing time and the incidence of ovarian cancer: findings from the Japan collaborative cohort study[J]. Cancer Causes Control, 2018, 29(5): 213-219.
- [3] 成曦, 苏张瑶, 孙宝兰, 等. 卵巢癌并发静脉血栓栓塞症高危因素 Meta 分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2018, 34(7): 764-711.
- [4] 王新荣, 张印坡, 张延新. 青藤碱抑制人卵巢癌 SKOV3 细胞活力、迁移和侵袭[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(5): 793-798.
- [5] QIU Y, LIU Y, LI WH, et al. P2Y2 receptor promotes the migration and invasion of breast cancer cells via EMT-related genes Snail and E-cadherin[J]. Oncol Rep, 2018, 39(1): 138-150.
- [6] VILARDELL J, ALCARAZ E, SARRÓ E, et al. Underexpression of CK2 β subunit in ccRCC represents a complementary biomarker of p-STAT3 Ser727 that correlates with patient survival[J]. Oncotarget, 2017, 9(5): 5736-5751.
- [7] TANG H, FAN D, LEI C T, et al. MAD2B promotes tubular epithelial-to-mesenchymal transition and renal tubulointerstitial fibrosis via Skp2[J]. J Mol Med (Berl), 2016, 94(11): 1297-1307.
- [8] ZHONG K, YANG F, HAN Q, et al. Skp2 expression has

different clinicopathological and prognostic implications in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma[J]. Oncol Lett, 2018, 16(3): 2873-2880.

- [9] SHEN L, QU X, LI H, et al. NDRG2 facilitates colorectal cancer differentiation through the regulation of Skp2-p21/p27 axis[J]. Oncogene, 2018, 37(13): 1759-1774.
- [10] ROSSO M, MAJEM B, DEVIS L, et al. E-cadherin: a determinant molecule associated with ovarian cancer progression, dissemination and aggressiveness [J]. PLoS One, 2017, 12(9): e0184439.
- [11] CERCELARU L, STEPAN A E, MÄRGÄRITESCU C, et al. E-cadherin, β -catenin and Snail immunoexpression in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. Rom J Morphol Embryol, 2017, 58(3): 761-766.
- [12] PARK J, HWANG I, KIM S J, et al. Atorvastatin prevents endothelial dysfunction in high glucose condition through Skp2-mediated degradation of FOXO1 and ICAM-1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 495(2): 1436-1449.
- [13] YANG Q, HUANG J, WU Q, et al. Acquisition of epithelial-mesenchymal transition is associated with Skp2 expression in paclitaxel-resistant breast cancer cells[J]. Br J Cancer, 2014, 110(8): 1958-1967.
- [14] LIN Y S, LIN Y Y, YANG Y H, et al. Antrodia cinnamomea extract inhibits the proliferation of tamoxifen-resistant breast cancer cells through apoptosis and Skp2/microRNAs pathway[J]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1): 152-160.
- [15] FAN X, WANG Y, FAN J, et al. Deletion of SMURF 1 represses ovarian cancer invasion and EMT by modulating the DAB2IP/AKT/Skp2 feedback loop [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(6): 10643-10651.
- [16] OGASAWARA N, KUDO T, SATO M, et al. Reduction of membrane protein crm1 decreases e-cadherin and increases claudin-1 and mmps, enhancing the migration and invasion of renal carcinoma cells[J]. Biol Pharm Bull, 2018, 41(4): 604-611.
- [17] LI S, LU J, CHEN Y, et al. MCP-1-induced ERK/GSK-3 β /Snail signaling facilitates the epithelial-mesenchymal transition and promotes the migration of MCF-7 human breast carcinoma cells[J]. Cell Mol Immunol, 2017, 14(7): 621-630.
- [18] SHAN B, MAN H, LIU J, et al. TIM-3 promotes the metastasis of esophageal squamous cell carcinoma by targeting epithelial-mesenchymal transition via the Akt/GSK-3 β /Snail signaling pathway[J]. Oncol Rep, 2016, 36(3): 1151-1161.