

专家
介
绍

严杰,男,教授、博士生导师,浙江大学医学院病原生物学系主任、学科带头人。1998 获德国吕贝克医科大学医学博士学位,1999 年获国务院政府特殊津贴,2000 年入选浙江省新世纪人才工程第一层次人才。主要研究方向为重要病原微生物感染的分子生物学机制和重要病原微生物基因工程疫苗及微生物相关药物的研发。现为中国微生物学会医学微生物学和免疫学专业委员会副主任委员、浙江省医学会微生物学和免疫学专业委员会副主任委员。《Journal of Signal Transduction》、《中华流行病学杂志》、《浙江大学学报(医学版)》编委。担任 SCI 杂志《Vaccine》、《BMC Microbiol》、《Microbes Infect》和《FMEBS Let》审稿专家。主编学术专著 5 部。

Trop2 过表达对人胃黏膜上皮细胞 GES-1 迁移能力的影响及机制

饶月丽^{1,2},沈定²,陈伟民²,许冬亚²,赵薇³,丁贵鹏³,严杰^{4*}

(¹浙江大学医学院,浙江 杭州 310058;²解放军第一一七医院输血科,浙江 杭州 310013;³南京医科大学病理学系,江苏 南京 211166;⁴浙江大学医学院病原微生物系,浙江 杭州 310058)

[摘要] 目的:观察 Trop2 过表达对人胃黏膜上皮细胞 GES-1 迁移能力的影响,并对其作用机制进行初步探讨。方法:real-time PCR 和 Western blot 检测 GES-1 细胞中 Trop2 mRNA 和蛋白的表达水平;构建过表达 Trop2 质粒及空载对照质粒并转染 GES-1 细胞,检测转染效率;细胞划痕实验和 Transwell 迁移实验检测过表达 Trop2 后 GES-1 细胞迁移能力的变化情况;Western blot 检测过表达 Trop2 后 GES-1 细胞上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)相关分子[上皮细胞标志 E-钙黏附蛋白(E-cadherin),间皮细胞标志纤维连接蛋白(fibronectin)、波形蛋白(vimentin)]的变化情况。结果:相比胃癌细胞株 BGC823 和 MGC803, Trop2 在 GES-1 细胞中的 mRNA 和蛋白表达水平均较低;过表达 Trop2 的质粒转染 GES-1 后, Trop2 的 mRNA 表达水平与未转染组相比提高(6.18 ± 0.52)倍,而空载对照组和未转染组相比无明显变化,蛋白水平的变化情况和 mRNA 相似;细胞划痕实验表明,转染 72 h 后,过表达组细胞迁移率达到 95%,空载对照组细胞迁移率为 50%,两组相比差异有统计学意义($P < 0.05$);Transwell 迁移实验发现,转染 24 h 后,过表达组穿膜细胞数为(87 ± 6)个,而空载对照组为(41 ± 6)个,两组相比差异有统计学意义($P < 0.05$);Western blot 检测过表达 Trop2 后,随着 Trop2 蛋白表达量增高, GES-1 细胞 E-cadherin 表达下调, fibronectin 和 vimentin 表达上调。结论:Trop2 过表达可以提高胃黏膜上皮细胞的迁移能力,其机制与 Trop2 促进胃黏膜上皮细胞 EMT 有关。

[关键词] Trop2;GES-1;迁移;上皮-间质转化

[中图分类号] R363

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)11-1300-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20161104

Effects of over-expression of Trop2 on migration of human gastric mucosal epithelial cells and its mechanism analyses

Rao Yueli^{1,2}, Shen Ding², Chen Weimin², Xu Dongya², Zhao Wei³, Ding Guipeng³, Yan Jie^{4*}

(¹School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058; ²Department of Blood Transfusion, the 117th Hospital of the People's Liberation Army, Hangzhou 310013; ³Department of Pathology, NJMU, Nanjing 211166; ⁴Department of Pathogen Biology, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of human trophoblast cell surface glycoprotein(Trop2) overexpression on migration of the human gastric mucosal epithelial cells and preliminary mechanism analyses. **Methods:** We explored mRNA and protein expression

[基金项目] 国家自然科学基金(81201596)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: med_bp@zju.edu.cn

levels of Trop2 in GES-1 cell line by real-time RT-PCR and Western blot. OE-Trop2 and VE-Trop2 plasmids were constructed and then transfected into GES-1 cell line, and the efficiency of transfection was detected. Cell wound healing assay and Transwell migration assay were performed to detect the change of the migration in GES-1 after transfected OE-Trop2 plasmids. The change of surface markers(E-cadherin, fibronectin, and vimentin) of epithelial-mesenchymal transition(EMT) in GES-1 cell line were detected by Western blot after Trop2 overexpression. **Results:** Compared with gastric cancer cell lines BGC823 and MGC803, the mRNA and protein expression levels of Trop2 in GES-1 were lower. After OE/VE-Trop2 plasmid transfected in GES-1, the mRNA expression level of Trop2 in the OE-Trop2 group was 6.18 ± 0.52 times higher than that of the control group, whereas no differences were detected between the control group and the VE-Trop2 group. Meanwhile, the protein expression model of Trop2 was similar to that of the mRNA expression. After transfected plasmids 72 h, cell wound healing assay showed that the migration rate of GES-1 was 50% in the VE-Trop2 group and 95% in the OE-Trop2 group ($P < 0.05$). After transfected OE-Trop2 plasmids 24 h, transwell migration assay showed that the number of migration cell was 41 ± 6 in the VE-Trop2 group, whereas 87 ± 6 in the OE-Trop2 group ($P < 0.05$). Western-blot assay showed that the expression level of E-cadherin in GES-1 was down-regulated; meanwhile, fibronectin and vimentin were up-regulated after transfected OE-Trop2. **Conclusion:** Trop2 overexpression could promote migration of GES-1 cell line through inducing EMT phenomenon.

[**Key words**] Trop2; GES-1; migration; epithelial-mesenchymal transition

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(11):1300-1305]

人滋养层细胞表面糖蛋白 (human trophoblast cell surface glycoprotein, Trop2) 高表达于多种肿瘤细胞表面, 在人体正常组织细胞中很少表达^[1]。Trop2 蛋白约为 36 kDa, 是单跨膜蛋白, 分为膜外区、跨膜区、膜内区和一个磷酸化的胞质尾, Trop2 被肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 转化酶裂解为胞外域和胞内域, 胞内域离开跨膜区后可以进入胞浆或者核内发挥作用^[2-3]。Trop2 常过表达于不同的上皮肿瘤组织, 对肿瘤的恶性生物学行为有促进作用^[4]。有文献报道, Trop2 基因能够促进细胞生长、转化、再生和增殖^[5]。本研究将外源性 Trop2 基因转入人胃黏膜上皮细胞 GES-1 中, 观察分析 Trop2 过表达对 GES-1 细胞迁移能力的影响, 并初步探讨其分子机制。

1 材料和方法

1.1 材料

人胃癌细胞系 BGC823、MGC803, 人胃黏膜上皮细胞系 GES-1 均为本实验室保存。pReceiver-M98 Expression 载体为本实验室保存。

脂质体 Lipofectamine™ 2000 转染试剂、胰酶、TRIzol 试剂 (Invitrogen 公司, 美国); RPMI 1640 培养基、胎牛血清 (Gibco 公司, 美国), 逆转录试剂盒 (TaKaRa 公司, 日本), Transwell 小室 (Corning 公司, 美国); 抗 Trop2 抗体 (R&D Systems 公司, 美国), 上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 相关蛋白抗体: 抗 E-钙黏附蛋白 (E-cadherin) 抗体

(Invitrogen 公司, 美国)、抗纤维连接蛋白 (fibronectin) 及抗波形蛋白 (vimentin) 抗体 (Affinity 公司, 美国), 抗 β -actin 抗体 (Abcam 公司, 英国), 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗小鼠/兔 IgG 抗体 (北京中杉金桥生物技术有限公司); 增强化学发光试剂盒 (Pierce 公司, 美国), 化学发光检测系统 (Super-Signal West Pico 公司, 美国); ABI PRISM 7500HT 荧光定量 PCR 仪 (Biosystems 公司, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR 检测

收集细胞, TRIzol 试剂提取细胞 RNA, Nano Drop 2000 检测 RNA 纯度和浓度, 逆转录成 cDNA。SYBRgreen 染料法, 采用 ABI PRISM 7500HT 荧光定量 PCR 仪进行反应。以 β -actin 为内参照。引物设计如下: 人 β -actin 上游 5'-TGGAGAAAATCTGGCACCAC-3', 下游 5'-GATGATGCCTCGTTCTAC-3'; Trop2 上游 5'-TGTCCTGATGTGATATGTCTGAG-3', 下游 5'-GGGTGAGAGTGGTTGGG-3'。PCR 反应条件: 95℃ 2 min 预变性; 95℃ 30 s, 60℃ 35 s, 40 个循环。

1.2.2 p-M98-Trop2 过表达质粒构建

采用 TRIzol 法从人胃癌细胞系 BGC823 中提取 RNA, -80℃ 冰箱保存备用。PCR 引物根据 GenBank 中 Trop2 mRNA 的序列 (Gene ID: 4070) 设计, 上游 5'-GCCGTAGGCGTGTACGGT-3', 下游 5'-CCGGA-CACGCTGAACTTGT-3'。RT-PCR 扩增 972 bp 大小 Trop2 基因片段, 胶回收, T-A 克隆连接到 pReceiver-

M98 Expression 载体上, 连接产物转化大肠杆菌 DH5 α , 筛选重组质粒, 测序鉴定(图 1), 命名为 OE-Trop2, 空载质粒命名为 VE-Trop2。

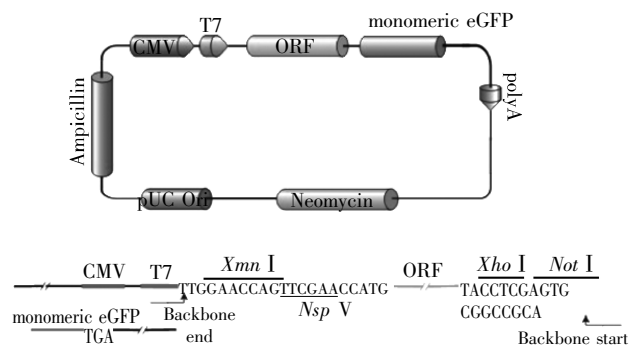


图 1 p-M98-Trop2 过表达质粒图谱

Figure 1 Plasmid pattern of overexpression of p-M98-Trop2

1.2.3 基因转染和克隆筛选

人胃黏膜上皮细胞 GES-1 体外培养于含有 10% 胎牛血清、1% 双抗的 RPMI 1640 完全培养液中, 培养条件为湿润状态下 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 。当细胞生长到 60%~70% 融合时, 参照脂质体 LipofectamineTM 2000 说明书转染 OE-Trop2 质粒 24 h 后, 换用含 300 mg/L G418 的完全培养基筛选, 3 周后选出抗性克隆株继续扩大培养, 以正常未转染的 GES-1 细胞为对照组, 以转染空载质粒 VE-Trop2 的细胞株为空载对照组。

1.2.4 细胞划痕实验

在 24 孔细胞培养板中, 每孔加入约 5×10^5 个 GES-1 细胞, 24 h 后进行实验, 将直尺置于 24 孔板下方, 用 20 μL 枪头比着直尺, 枪头垂直并紧贴孔底划痕, 刮除一部分细胞, 划出的痕迹尽量平直, 用 PBS 洗细胞 3 次, 去除划下的细胞, 加入 3% 血清培养基拍照记录为 0 h 划痕间距, 然后放入培养箱培养, 72 h 后观测划痕间距。在划痕每侧边缘均匀选取 30 个点, 取中线代表划痕边缘, 测量划痕间距, 并用以下公式计算迁移率: $72 \text{ h 细胞迁移率} (\%) = (0 \text{ h 边缘距离} - 72 \text{ h 边缘距离}) / 0 \text{ h 边缘距离} \times 100\%$, 实验重复 3 次。

1.2.5 Transwell 迁移实验

应用 12 孔 Transwell 小室进行侵袭实验, 在上室孔中分别加入各组细胞 1×10^5 个/孔(无血清培养基的单细胞悬液), 下室中加入含趋化因子的完全培养基 600 μL , 培养 24 h。待培养时间结束后将 Transwell 上室的附着细胞用湿棉签擦去、苏木精染色, 固定封片后显微镜下直接观察穿过膜的细胞

数, 实验重复 3 次。

1.2.6 Western blot 检测

细胞接种于 6 孔板内, 待 90% 汇合, 用含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的裂解缓冲液裂解细胞。Nano Drop 2000 检测蛋白浓度。取等量总蛋白于 6% SDS-PAGE 胶电泳, 然后将 SDS-PAGE 凝胶转移至 PVDF 膜中, 低温恒流(300 mA)转膜 150 min, 转膜结束后取出 PVDF 膜, 丽春红染色, 脱色, 置于 5% 脱脂奶粉溶液中封闭 2 h, 分别加入抗 Trop2 抗体、抗 E-cadherin 抗体、抗 fibronectin 抗体、抗 vimentin 抗体、抗 β -actin 抗体(1:1 000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, TBST 洗 3 次, 每次 15 min, 再分别加入 HRP 标记抗兔或抗鼠二抗(1:3 000), 室温摇床孵育 1 h, TBST 洗 3 次, 每次 15 min。ECL 化学发光试剂盒显影, 曝光。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 18.0 统计软件分析。数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组数据间的比较采用独立样本 t 检验, 多组数据间的比较采用方差分析(两两比较中的假定方差齐性 LSD 法)。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 real-time RT-PCR 和 Western blot 检测 Trop2 mRNA 和蛋白表达水平

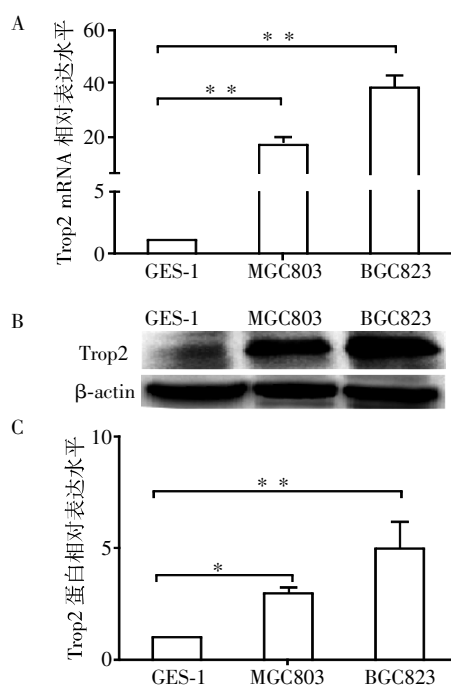
选择胃癌细胞系 BGC823、MGC803 为对照, 对比分析正常胃黏膜上皮细胞 GES-1 上 Trop2 基因的表达情况。Real-time PCR 结果显示, MGC803 和 BGC823 的 Trop2 mRNA 水平分别比 GES-1 高 (17.12 ± 3.05) 倍和 (38.21 ± 5.02) 倍; Western blot 结果显示, MGC803 和 BGC823 的 Trop2 蛋白表达水平分别比 GES-1 高 (3.42 ± 0.28) 倍和 (5.31 ± 1.21) 倍(图 2)。

2.2 质粒转染 GES-1 细胞后 Trop2 的表达情况

经脂质体介导转染 GES-1 过表达 Trop2 质粒(OE-Trop2)和空载对照质粒(VE-Trop2), 荧光显微镜观察质粒转染效率(图 3A), real-time PCR 检测 Trop2 mRNA 水平(图 3B)。与未转染对照组相比, OE-Trop2 组 Trop2 mRNA 表达量增加(6.18 ± 0.52) 倍, 而 VE-Trop2 组和未转染质粒对照组相比, Trop2 mRNA 表达情况无明显变化。Western blot 检测蛋白表达情况, 结果和 mRNA 表达情况相似。

2.3 细胞划痕及 Transwell 迁移实验检测过表达 Trop2 后 GES-1 细胞迁移能力

细胞划痕实验表明, 与 VE-Trop2 对照组相比,



A:real-time RT-PCR 检测 3 株细胞系 Trop2 mRNA 表达水平统计图;B:Western blot 检测 3 株细胞系 Trop2 蛋白表达水平;C: 定量分析 3 株细胞系 Trop2 蛋白的表达水平。两组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$, $n=3$ 。

图 2 检测 3 株细胞系 Trop2 mRNA 和蛋白的表达水平
Figure 2 mRNA and protein expressions of Trop2 in three cell lines

转染 OE-Trop2 质粒的 GES-1 细胞在培养 72 h 后迁移能力增强,72 h 后细胞迁移率达到 95%,而 VE-Trop2 组的迁移率约为 50%,两组相比差异有统计学意义($P < 0.01$,图 4A)。

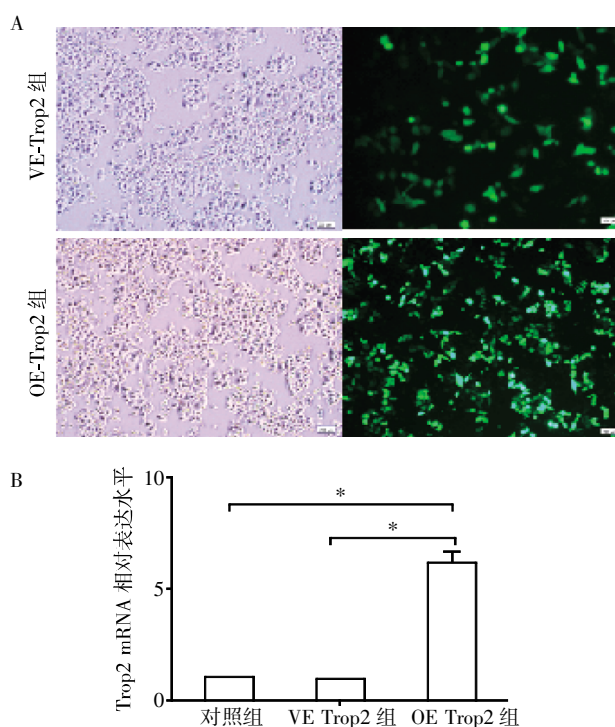
Transwell 迁移实验表明,培养 24 h 后,OE-Trop2 组平均每个视野穿出微孔细胞数较 VE-Trop2 对照组增加,约为(87 ± 6)个细胞,而 VE-Trop2 组约为(41 ± 6)个细胞,两组相比差异有统计学意义($P < 0.01$,图 4B)。

2.4 Western blot 检测过表达 Trop2 后 GES-1 细胞 EMT 相关蛋白表达情况

Western blot 检测两组细胞的 EMT 相关蛋白表达变化,结果显示,与 VE-Trop2 组相比,随着 OE-Trop2 组 GES-1 细胞 Trop2 蛋白表达量增加,上皮细胞表面标志物 E-cadherin 表达明显下调,而间皮细胞表面标志物 fibronectin 和 vimentin 表达上调(图 5)。

3 讨论

GES-1 细胞为人胃黏膜上皮细胞经猴空泡病毒 40 感染后获得的永生化细胞系,保留了部分人胃



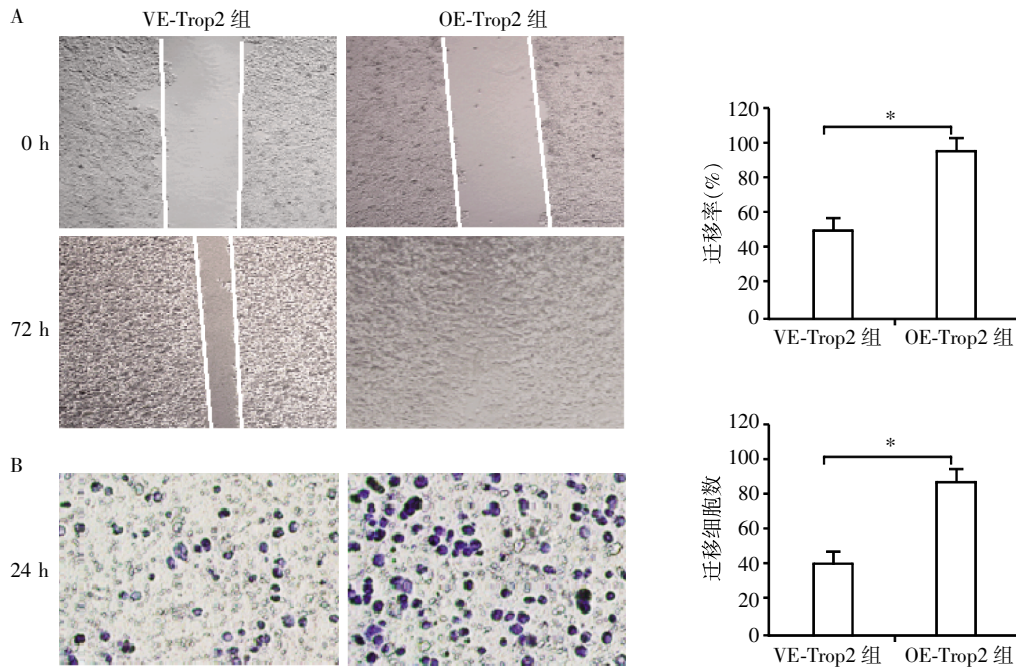
A: 荧光显微镜观察过表达载体上绿色荧光蛋白表达水平($\times 200$);B:real-time PCR 检测不同处理组 Trop2 mRNA 表达水平统计图。两组比较,* $P < 0.01$, $n=3$ 。

图 3 VE-Trop2 和 OE-Trop2 转染 GES-1 细胞效率的检测
Figure 3 Efficiency of VE-Trop2 and OE-Trop2 transfected into GES-1 cells

黏膜上皮的生物学特性,如黏蛋白的分泌功能、非致癌性及正常的细胞骨架等[6]。

Trop2 在肿瘤发生发展过程中扮演着重要作用,并成为多种肿瘤患者的独立预后因子。它在多种肿瘤细胞中过表达,而在正常组织中限制性表达,当细胞恶变或者肿瘤细胞转移和复发时,Trop2 蛋白在细胞质中大量表达[7-8]。该蛋白成为肿瘤临床治疗的靶分子之一[9]。本课题组前期已制备出多种抗 Trop2 抗体,并证实抗 Trop2 抗体能够抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭能力[10-12]。

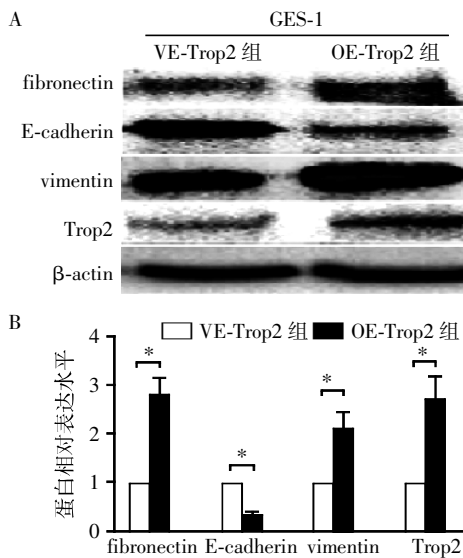
EMT 现象是指上皮细胞在正常生理和特定病理条件下向间充质细胞转化的现象[13],广泛存在于人体多个生理和病理过程中,对肿瘤转移具有重要作用[14],能使肿瘤细胞重编程后具备干细胞样特性[15]。EMT 现象作为胚胎发育过程中的一个重要过程,在上世纪 80 年代就已经被发现,人们根据 EMT 参与的不同功能,将这一现象分为三类。第一类:在正常生长发育过程中出现的 EMT,如胚胎发育和器官形成;第二类:在伤口愈合、器官纤维化、组织重建等过程中出现的 EMT;第三类:在肿瘤侵袭转移过程中发生的 EMT,能够赋予上皮细胞侵袭转移的



A: 划痕实验检测 VE-Trop2 和 OE-Trop2 组细胞迁移率; B: Transwell 迁移实验检测细胞迁移情况。两组比较, *P < 0.01, n=3。

图 4 过表达 Trop2 转染后检测 GES-1 细胞的迁移能力

Figure 4 Migration of GES-1 cells after transfection of overexpressed Trop2 plasmids



A: Western blot 蛋白电泳结果; B: 各组蛋白的定量分析。两组比较, *P < 0.01, n=3。

图 5 Western blot 检测过表达 Trop2 后 GES-1 细胞 EMT 相关蛋白表达情况

Figure 5 Expression of EMT associated proteins in GES-1 cells after Trop2 overexpression by Western blot assay

能力^[16]。在肿瘤转移起始过程中,肿瘤细胞为了适应微环境的变化,需要发生许多表型改变^[17]。正常上皮组织的多层细胞结构不利于恶性肿瘤细胞的迁移与浸润,为了获得运动能力,肿瘤细胞通过发

生 EMT 现象丢失上皮表型(细胞间黏附、基顶极性以及非移动性)和上皮细胞表面标志物,如 E-cadherin,而获得间质表型(可移动性、浸润能力以及抗凋亡能力)和间质细胞表面标志物,如 fibronectin、vimentin 等^[18]。因此,EMT 现象在肿瘤转移的初始阶段非常重要和必不可少。

为研究 Trop2 基因的生物学功能,观察 Trop2 基因过表达对人胃黏膜上皮细胞 GES-1 迁移能力的影响,本研究首先运用 real-time PCR 和 Western blot 技术检测了 Trop2 基因在 GES-1 细胞中的表达情况,结果显示 GES-1 中 Trop2 mRNA 和蛋白水平均较低,该结果符合本实验室前期组织芯片免疫组化的研究结果^[2,4]。然后通过阳离子脂质体转染技术,GES-1 细胞成功转染 Trop2 过表达质粒,OE-Trop2 组 Trop2 mRNA 表达量比对照组增加(6.18 ± 0.52)倍,蛋白水平也证实了 OE-Trop2 质粒转染有效。过表达细胞模型制备成功后,进行了细胞划痕和 Transwell 迁移实验,以检测过表达 Trop2 后 GES-1 细胞迁移能力的变化,结果表明 Trop2 过表达能够增强 GES-1 细胞的迁移能力。最后本研究还检测了过表达 Trop2 后 GES-1 细胞 EMT 表面标志物的表达情况,结果表明过表达 Trop2 后能下调上皮细胞标志物 E-cadherin,同时上调间皮细胞标志物 vimentin 和 fibronectin。Durchdewald 等^[19]在 2009 年

报道了相似的研究结果,Trop2可能通过AP-1-EMT信号通路影响细胞的迁移和转移。上述研究结果提示,Trop2基因在胃黏膜上皮细胞系GES-1中低表达,Trop2过表达可以促进胃黏膜上皮细胞的迁移能力,其机制与Trop2促进胃黏膜上皮细胞的EMT有关。

本研究初步证明Trop2基因能通过促进EMT增强GES-1细胞株的迁移能力,并初步观察到Trop2高表达能够使GES-1细胞具有恶变倾向,但由于胃癌的发生发展是一个多步骤多阶段的复杂过程,因此Trop2在导致正常胃黏膜上皮细胞恶变过程中的作用机制还有待深入探讨。作者将进一步研究Trop2过表达后,对GES-1细胞增殖、凋亡、细胞周期及耐药性等方面的影响,并探讨其分子机制,希望能为胃癌发生发展的机制研究提供新的思路和靶点。

[参考文献]

[1] Shvartsur A, Bonavida B. Trop2 and its overexpression in cancers: regulation and clinical/therapeutic implications [J]. *Genes Cancer*, 2015, 6(3/4): 84-105

[2] Zhao W, Zhu H, Zhang S, et al. Trop2 is overexpressed in gastric cancer and predicts poor prognosis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5): 6136-6145

[3] McDougall AR, Hooper SB, Zahra VA, et al. The oncogene Trop2 regulates fetal lung cell proliferation [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 301(4): L478-L489

[4] Lin H, Zhang H, Wang J, et al. A novel human Fab antibody for Trop2 inhibits breast cancer growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(5): 1239-1249

[5] Mustata RC, Vasile G, Fernandez-Vallone V, et al. Identification of Lgr5-independent spheroid-generating progenitors of the mouse fetal intestinal epithelium [J]. *Cell Rep*, 2013, 5(2): 421-432

[6] Dyson N, Buchkovich K, Whyte P, et al. The cellular 107K protein that binds to adenovirus E1A also associates with the large T antigens of SV40 and JC virus [J]. *Cell*, 1989, 58(2): 249-255

[7] McDougall AR, Tolcos M, Hooper SB, et al. Trop2: from development to disease [J]. *Dev Dyn*, 2015, 244(2): 99-109

[8] Trerotola M, Jernigan DL, Liu Q, et al. Trop-2 promotes prostate cancer metastasis by modulating β (1) integrin functions [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(10): 3155-3167

[9] Stepan LP, Trueblood ES, Hale K, et al. Expression of Trop2 cell surface glycoprotein in normal and tumor tissues: potential implications as a cancer therapeutic target [J]. *J Histochem Cytochem*, 2011, 59(7): 701-710

[10] 梁洁, 刘琼琼, 张慧林, 等. 抗人滋养层细胞表面抗原-2单抗的制备及免疫学特性分析 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2011, 31(5): 645-650

[11] 王小英, 林红, 张慧林, 等. 人源抗Trop-2抗体Fab的制备及条件优化 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2012, 32(1): 35-39

[12] 褚楚, 刘金荣, 张慧林, 等. 人源抗Trop-2 Fab对宫颈癌细胞生物学特性的影响 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2015, 35(3): 320-325

[13] Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis [J]. *Science*, 2011, 331(624): 1559-1564

[14] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(6): 442-454

[15] Shipitsin M, Campbell LL, Argani P, et al. Molecular definition of breast tumor heterogeneity [J]. *Cancer Cell*, 2007, 11(3): 259-273

[16] Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6): 1420-1428

[17] Felipe Lima J, Nofech-Mozes S, Bayani J, et al. EMT in breast carcinoma-A review [J/OL]. *J Clin Med*, 2016, 5(7): pii: E65 [2016-09-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4961996/>. DOI: 10.3390/jcm5070065

[18] Mani SA, Guo WJ, Liao MJ, et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells [J]. *Cell*, 2008, 133(4): 704-715

[19] Durchwald M, Angel P, Hess J. The transcription factor Fos: a Janus-type regulator in health and disease [J]. *Histol Histopathol*, 2009, 24(11): 1451-1461

[收稿日期] 2016-09-05