

GP73通过EMT调节肝癌细胞对奥沙利铂耐药

刘晓冬¹, 武晓萌^{1*}, 王冬¹, 康乐², 张琦¹

1. 牡丹江医学院附属第二医院, 黑龙江 牡丹江 157011

2. 中国人民武装警察部队特色医学中心, 天津 300162

摘要: 目的 探究GP73是否通过上皮间质转化(EMT)影响肝癌细胞对奥沙利铂耐药。方法 采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)和Western blotting实验检测GP73在肝癌患者癌旁和癌组织中的表达变化; Western blotting检测GP73在SMMC7721、Bel-7404和HepG2细胞株中表达差异; 采用浓度梯度递增方法建立HepG2奥沙利铂获得性耐药细胞株, 通过MTT法检测奥沙利铂(2、4、8、16、32 $\mu\text{mol/L}$)对亲本细胞和耐药细胞活性的影响; 采用Western blotting实验检测HepG2亲本细胞和耐药细胞中GP73及上皮间质转化相关分子*N*-cadherin、Vimentin、*E*-cadherin的表达; 利用siRNA/质粒分别干扰或过表达GP73, 采用MTT法检测奥沙利铂(2、4、8、16、32 $\mu\text{mol/L}$)对干扰GP73前后耐药细胞活性的影响; 通过Western blotting实验检测Vimentin、*N*-cadherin和*E*-cadherin的表达。结果 与癌旁组织比较, GP73 mRNA和蛋白水平在肝癌组织中均显著上调($P < 0.05$); 与SMMC7721和Bel-7404GP73细胞比较, GP73在HepG2细胞中显著高表达($P < 0.05$)。奥沙利铂对亲本和耐药细胞的半数抑制浓度(IC_{50})分别为(12.03 ± 0.06)、(19.26 ± 0.04) $\mu\text{mol/L}$; 干扰GP73后奥沙利铂对耐药细胞的抑制率升高, 8、16、32 $\mu\text{mol/L}$ 浓度组差异显著($P < 0.05$)。与亲本细胞比较, 耐药细胞中GP73、*N*-cadherin及Vimentin蛋白表达显著上调($P < 0.05$), 而*E*-cadherin蛋白表达显著下调($P < 0.05$)。干扰GP73后, Vimentin、*N*-cadherin表达显著下调, *E*-cadherin的表达显著上调($P < 0.05$); 过表达GP73后, Vimentin、*N*-cadherin表达显著上调, *E*-cadherin的表达显著下调($P < 0.05$)。结论 GP73对人肝癌细胞奥沙利铂耐药具有促进作用, 其作用机制可能与调节EMT相关。

关键词: 高尔基体糖蛋白73; 肝癌; 上皮间质转化; 奥沙利铂; 耐药

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)05-1004-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.05.014

GP73 regulates oxaliplatin resistance through EMT in hepatocellular carcinoma

LIU Xiaodong¹, WU Xiaomeng¹, WANG Dong¹, KANG Le², ZHANG Qi¹

1. Second Affiliated Hospital of Mudanjiang Medical College, Mudanjiang 157011, China

2. Characteristic Medical Center of the Chinese people's Armed Police Force, Tianjing 300162, China

Abstract: Objective To investigate whether GP73 affects oxaliplatin resistance of hepatocellular carcinoma through EMT. **Methods** qPCR and Western blot were used to detect expression of GP73 in adjacent normal tissues and HCC tissues. Western blotting was used to detect the expression difference of GP73 in SMMC7721, BEL-7404 and HepG2 cell lines. OXA resistant cell was established by long term and low dose OXA incubation. MTT assay was used to detect the effect of OXA (2, 4, 8, 16, 32 $\mu\text{mol/L}$) on the activity of non-resistant and resistant cells and evaluate the establishment of OXA acquired resistant cell lines. Western blotting was used to detect the expression of GP73, EMT markers *N*-cadherin, Vimentin and *E*-cadherin in non-resistant and OXA resistant cells. GP73 were knocked down and overexpressed by siRNA/plasmid transfection in OXA resistant HepG2 cell. MTT assay was used to detect the effects of oxaliplatin (2, 4, 8, 16, 32 $\mu\text{mol/L}$) on the activity of drug-resistant cells before and after GP73 interference. Western blotting was used to detect the expression of GP73, EMT markers *N*-cadherin, Vimentin and *E*-cadherin. **Results** Compared with adjacent tissues, the mRNA and protein levels of GP73 were significantly up-regulated in liver cancer tissues ($P < 0.05$). Compared with SMMC7721 and Bel-7404GP73 cells, the expression of GP73 was significantly higher in HepG2 cells ($P < 0.05$). The IC_{50} values of oxaliplatin against parents and drug-resistant cells were (12.03 ± 0.06), (19.26 ± 0.04) $\mu\text{mol/L}$,

收稿日期: 2020-09-06

基金项目: 黑龙江省省属高等学校基本科研业务费(2019-KYYWF-0968)

第一作者: 刘晓冬(1974—), 女, 副主任药师。主要从事药理学、临床药学研究。E-mail: myfseylxd@126.com Tel: (0453)8927608

*通信作者: 武晓萌 E-mail: lemon5769@163.com

respectively, respectively. After interfering with GP73, the inhibition rate of oxaliplatin on drug-resistant cells was increased, and there were significant differences in 8, 16 and 32 $\mu\text{mol/L}$ concentration groups ($P < 0.05$). Compared with parental cells, the protein expressions of GP73, *N*-cadherin and Vimentin in drug-resistant cells were significantly up-regulated ($P < 0.05$), while the protein expression of *E*-cadherin was significantly down-regulated ($P < 0.05$). After interference with GP73, the expression of Vimentin and *N*-cadherin was significantly down-regulated, while the expression of *E*-cadherin was significantly up-regulated ($P < 0.05$). After overexpression of GP73, the expression of Vimentin and *N*-cadherin were significantly up-regulated, while the expression of *E*-cadherin was significantly down-regulated ($P < 0.05$). **Conclusion** GP73 can promote oxaliplatin resistance in human hepatoma cells, and its mechanism may be related to regulating EMT.

Key words: golgi protein 73; hepatocellular carcinoma; epithelial mesenchymal transition; oxaliplatin; drug resistance

肝细胞癌简称肝癌,是最常见的原发性肝脏恶性肿瘤,在世界范围内的发病率和死亡率正在逐年上升^[1]。相对于其他恶性肿瘤,肝癌的发病率在男性中排名第五,在女性中排名第九,在全球癌症死亡人数中排名第二^[2]。乙型肝炎病毒(HBV)感染、丙型肝炎病毒(HCV)感染、受污染的食物中产生的黄曲霉素以及酗酒导致的肝硬化是肝癌的主要诱因。我国肝癌的发病人数占到全球肝癌发病人数的51%,是全球肝癌发病率和死亡率较高的国家之一,严重威胁人民的生命健康^[3]。目前,手术切除、肝移植及消融等根治性治疗仍是肝癌患者首选治疗方法,但是肝癌早期症状不典型,临床上难以发现,确诊时多已是中晚期,仅有20%~30%的患者适合手术,化疗作为肝癌临床常用的姑息性治疗手段之一,在防治肝癌的复发和转移方面发挥着十分重要的作用^[4-5]。阿霉素、氟尿嘧啶和顺铂等细胞毒药物的传统化疗方案治疗晚期肝癌,不仅损伤肝功能,还可能加重肝炎、肝硬化,有效率低,毒副作用大。因此,寻找一种高效低毒的肝癌化疗药物,成为众多研究者亟待解决的问题^[6]。奥沙利铂是继顺铂和卡铂之后的第三代铂类抗癌药,已逐渐成为治疗肝癌的主要药物,但部分患者仍表现出耐药,奥沙利铂耐药是肝癌治疗中的巨大障碍。因此,发现影响肝癌化疗耐药的关键靶点及其相关的信号通路,并了解其作用机理成为亟待解决的关键问题。

高尔基体糖蛋白73(Golgi protein 73, GP73)是存在于高尔基体的一种II型跨膜糖蛋白,相对分子质量为 7.3×10^4 ,其基因位于第9号染色体,全长3 042 bp,编码402个氨基酸^[7]。GP73在早期肝癌患者血清内表达上调,是最有潜力的肝癌血清标志物之一^[8-10]。且在膀胱癌、胰腺癌和肝癌中,GP73通过诱导上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)促进肿瘤细胞侵袭和转移^[11-13]。EMT是具有极性的上皮细胞向间质细胞发生表型转变并获得迁移能力的过程^[14]。EMT不仅在多种

上皮源性肿瘤的侵袭和转移中起关键作用,而且在一些肿瘤化疗耐药中也发挥着重要作用^[15-16]。肿瘤细胞在产生获得性耐药的过程中有间质化的趋势,而本身具有间质分化状态的肿瘤细胞也常表现为原发性耐药的特点,EMT已逐渐被认为是肿瘤耐药的一个新的重要机制^[17]。因此,本研究探讨GP73是否通过调节EMT影响肝癌细胞奥沙利铂耐药,为临床上应用治疗肝癌时的用药提供实验依据。

1 材料

1.1 标本与细胞株

收集牡丹江医学院附属第二医院病理科2019年1—12月肝癌手术切除标本;正常肝癌和癌周的新鲜组织10对,−86℃低温冰箱保存,本研究经牡丹江医学院附属第二医院伦理委员会批准。人肝癌细胞株HepG2、Bel-7404、SMMC7721购于中国科学院细胞库。

1.2 药物与主要试剂

奥沙利铂,购自江苏恒瑞医药股份有限公司,批号为190723AL。DMEM高糖培养基及胎牛血清均购自美国Hyclone公司;胰蛋白酶购自美国Sigma公司;四甲基偶氮唑盐(MTT)购自南京建成公司;Lipofectamine™2000购自美国Invitrogen公司;siRNA、质粒购自锐博生物;实时荧光定量PCR(qRT-PCR)引物购自天一辉远生物科技有限公司;GP73、 β -actin抗体购自Santa Cruz公司;*E*-cadherin、*N*-cadherin和Vimentin抗体购自Abcam公司。

2 方法

2.1 细胞培养

HepG2、Bel-7404、SMMC7721细胞株均接种于含有10%胎牛血清的高糖DMEM(不含抗菌药物)中,HepG2耐药细胞培养于含10%胎牛血清及最大耐受浓度奥沙利铂DMEM培养液中,在37℃、5%CO₂浓度的培养箱中孵育,取对数生长期的细胞用于实验。

2.2 GP73在肝癌组织和细胞表达检测

2.2.1 qRT-PCR 检测 GP73 在肝癌组织中的表达 为了初步检测 GP73 在肝癌中的表达,利用 qRT-PCR 检测 GP73 在肝癌及癌旁组织中的表达变化。用 Trizol 法提取肝癌及癌旁组织总 RNA,用酶标仪检测 RNA 纯度和浓度。用 RNA 样品 5 μ g 进行反向转录,反应体系为 20 μ L,逆转录反应条件:42 $^{\circ}$ C 反应 60 min,70 $^{\circ}$ C、5 min 终止反应,-20 $^{\circ}$ C 保存待用。GP73 正向引物序列为:5'-ATCACCACAGGTGAGAGGCTCA-3',反向引物序列为 3'-ACTTCCTCTCCAGGTTGGTCTG-5'; β -actin 正向引物序列为:5'-CACCATTGGCAATGAGCGGTTC-3',反向引物序列为 3'-AGGTCTTTGCGGATGTCCA CGT-5'。PCR 反应体系 20 μ L,反应条件为 95 $^{\circ}$ C、5 min,95 $^{\circ}$ C、30 s,60 $^{\circ}$ C、30 s,72 $^{\circ}$ C、30 s,40 个循环,72 $^{\circ}$ C、10 min。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法进行结果分析,求得各 mRNA 的相对表达量。

2.2.2 Western blotting 检测 GP73 在肝癌组织及细胞株中的表达 Western blotting 检测 GP73 在肝癌、癌旁组织和 SMMC7721、Bel-7404、HepG2 细胞株中蛋白水平的变化。提取细胞总蛋白:1 $\times$ SDS 上样缓冲液裂解细胞,10 000 $\times$ g 离心 20 min,取上清液。取细胞总蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳(分离胶浓度根据不同蛋白的相对分子质量自行选取,一般范围为 12%~15%),100 V 电泳 3 h 后,将蛋白电转移至 PVDF 膜,5%脱脂奶粉封闭 PVDF 膜上的非特异性结合位点,加入特异性一抗,4 $^{\circ}$ C 过夜,PBST 缓冲液洗膜 3 次,每次 10 min,加入 HRP 标记的二抗,室温孵育 1 h,PBST 缓冲液洗膜 3 次,每次 10 min。使用化学发光试剂盒 X 光片显色目的条带,以 β -actin 作为内参。

2.3 奥沙利铂 HepG2 耐药细胞株的建立、验证及 EMT 相关蛋白的表达检测

采用浓度梯度递增方法对肝癌细胞 HepG2 亲本株进行长时间培养,建立奥沙利铂获得性耐药细胞株,把 HepG2 细胞置于含 2 μ mol/L 奥沙利铂培养液中,待细胞稳定生长,逐步提高药物浓度(2、4、8、16、32 μ mol/L),直至细胞耐受稳定。

2.3.1 MTT 法检测奥沙利铂对 HepG2 亲本和耐药细胞活性的影响 取 HepG2 亲本和耐药细胞以 4×10^4 /孔的密度接种到 96 孔板培养,培养 24 h 后加入不同浓度奥沙利铂(2、4、8、16、32 μ mol/L),另设不加药对照组,每个浓度设 3 个复孔。加药后的细胞继续培养 48 h 后,于实验终止前 4 h 每孔加入 10 μ L

的 MTT 溶液,继续培养 4 h。用酶标仪测定各孔在 490 nm 处的吸光度(A)值。计算细胞抑制率。

$$\text{细胞抑制率} = 1 - A_{\text{奥沙利铂}} / A_{\text{对照}}$$

2.3.2 Western blotting 实验检测 HepG2 亲本和耐药细胞中 GP73、N-cadherin、Vimentin、E-cadherin 蛋白表达 取 HepG2 亲本和耐药细胞以 6.4×10^5 /孔的密度接种到 96 孔板培养,培养 24 h 后,提取总蛋白,Western blotting 实验检测 GP73、N-cadherin、Vimentin、E-cadherin 蛋白表达,方法同“2.2.2”项。

2.4 干扰/过表达 GP73 对肝癌细胞奥沙利铂耐药研究

为了进一步探究 GP73 在 HepG2 细胞中是否影响奥沙利铂耐药,采用 siRNA/质粒分别干扰或过表达 GP73。用 DMEM 分别稀释 2 μ g siRNA/质粒,作为 siRNA/质粒-DMEM 混合液。同时用 DMEM 稀释 X-treme,作为 X-treme-DMEM 混合液。室温静置 5 min 后,将 siRNA/质粒-DMEM 混合液与 X-treme-DMEM 混合液混匀,静置 20 min。用 DMEM 清洗细胞 1~2 次,并在每孔中加入 1 mL 无血清无双抗 DMEM。将 siRNA/质粒-X-treme-DMEM 混合物加入到每孔细胞中,37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱静置培养。4~6 h 后尽弃孔中液体,换为 5%FBS-DMEM。

MTT 法分别检测不同浓度奥沙利铂(2、4、8、16、32 μ mol/L)对 HepG2 耐药细胞、siGP73 耐药细胞活性的影响,方法同“2.3.1”项。

Western blotting 实验检测 HepG2 耐药细胞、siGP73 耐药细胞、过表达中 GP73 耐药细胞中 GP73、N-cadherin、Vimentin、E-cadherin 蛋白表达,方法同“2.3.2”项。

2.5 统计学方法

使用统计软件 SPSS 17.0 进行数据分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组比较采用方差分析,两组间比较采用独立样本 t 检验,细胞活性的抑制率曲线采用 Graph Prism 6.0 软件进行绘制。

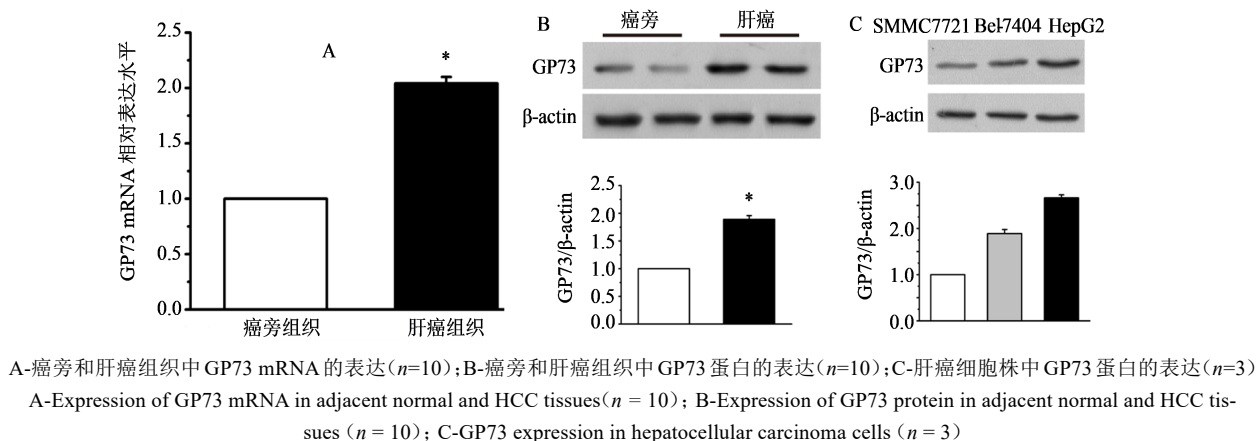
3 结果

3.1 GP73 在肝癌组织和细胞中高表达

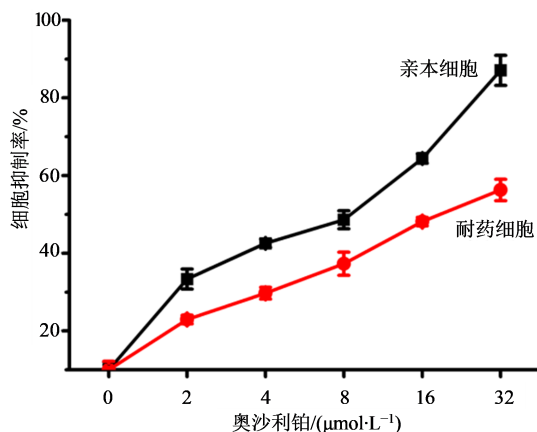
与癌旁组织比较,GP73 mRNA 和蛋白水平在肝癌组织中均显著上调($P<0.05$)(图 1-A、B);与 SMMC7721 和 Bel-7404GP73 细胞比较,GP73 在 HepG2 细胞中显著高表达($P<0.05$)(图 1-C)。

3.2 奥沙利铂 HepG2 耐药细胞株的建立

MTT 法分别检测奥沙利铂对亲本细胞和耐药细胞活性的影响,分析两者的 IC_{50} 分别为(12.03 ± 0.06)、(19.26 ± 0.04) μ mol/L,结果显示,耐药细胞

图1 GP73在肝癌组织和细胞中的表达($\bar{x} \pm s$)Fig. 1 GP73 expression in hepatocellular carcinoma tissues and cells ($\bar{x} \pm s$)

比亲本细胞对奥沙利铂具有更强的耐受性、更佳稳定性。结果见图2。

图2 奥沙利铂对HepG2亲本和耐药细胞的抑制率($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 2 Inhibition rate of oxaliplatin on parental and drug-resistant HepG2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.3 干扰GP73可以缓解肝癌细胞奥沙利铂耐药

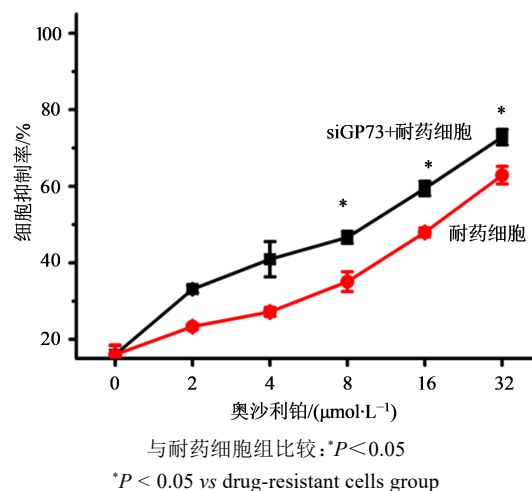
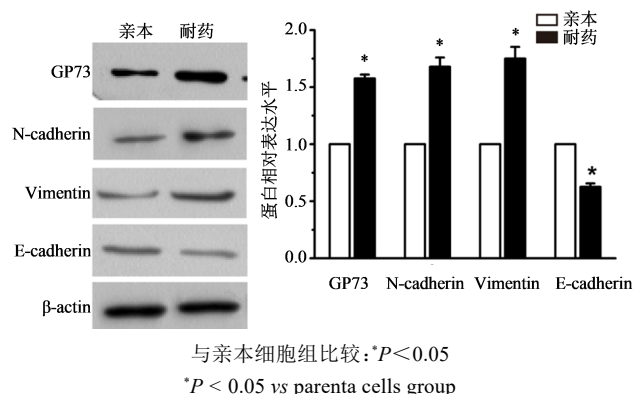
采用siRNA干扰GP73, MTT法检测不同浓度奥沙利铂对干扰GP73前后耐药细胞活性的影响, 分析两者的 IC_{50} 分别为 (17.11 ± 0.06) 、 $(10.12 \pm 0.05) \mu\text{mol/L}$, 干扰GP73后奥沙利铂对耐药细胞的抑制率升高, 8、16、32 $\mu\text{mol/L}$ 浓度组差异显著($P < 0.05$)。结果见图3。

3.4 亲本与耐药细胞中GP73及EMT相关蛋白的表达

与亲本细胞比较, 耐药细胞中GP73、N-cadherin及Vimentin蛋白表达显著上调($P < 0.05$), 而E-cadherin显著下调($P < 0.05$)。结果见图4。

3.5 GP73通过EMT介导肝癌细胞奥沙利铂耐药

如图5所示, 干扰GP73后, Vimentin、间质细胞标记物N-cadherin表达显著减少, 上皮细胞标记物

图3 奥沙利铂对HepG2耐药细胞、siGP73耐药细胞活性的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 3 Effect of oxaliplatin on activity of HepG2-resistant cells and siGP73 resistant cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)图4 奥沙利铂耐药细胞中EMT相关蛋白表达($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 4 Expression of EMT-related protein in oxaliplatin-resistant cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

E-cadherin的表达显著增加($P < 0.05$); 相反, 过表达GP73后, Vimentin、N-cadherin表达显著增加,

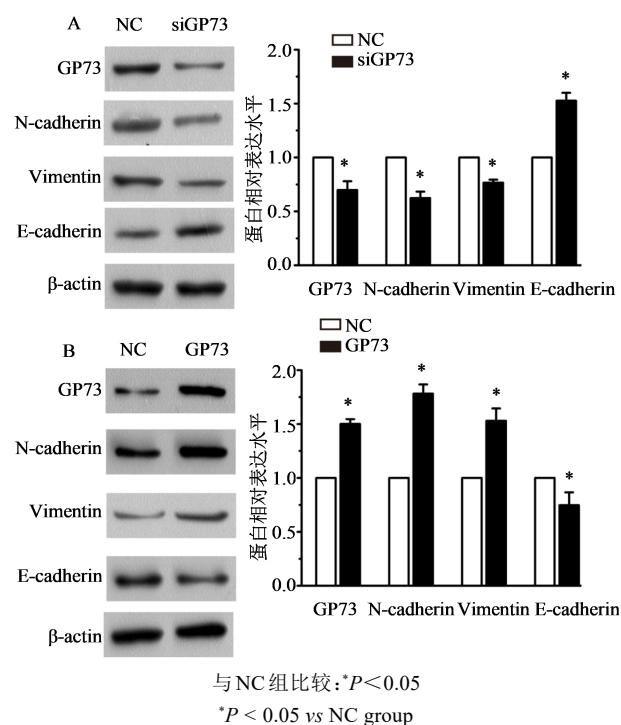


图5 干扰(A)/过表达(B)GP73后奥沙利铂耐药细胞中 EMT 相关蛋白表达

Fig. 5 Expression of EMT-related protein in oxaliplatin-resistant cells after GP73 interference (A)/overexpression (B)

E-cadherin 的表达显著减少 ($P < 0.05$)。结果提示, GP73 可以通过 EMT 介导肝癌细胞奥沙利铂耐药。

4 讨论

肝癌作为一种常见的恶性肿瘤,在临床治疗中面临着化疗耐药的重大问题^[4]。研究表明,奥沙利铂作为治疗肿瘤的主要化疗药物之一,在晚期肝癌的治疗中取得了一定的疗效,是目前公认的最有效的化疗药。但是在临床实际应用中奥沙利铂对肝癌患者的疗效并没有表现出如研究中那样有效的结果,肿瘤细胞对化疗药耐药成为肝癌治疗中的一个巨大障碍^[18]。因此,本研究从 EMT 方向,研究 GP73 在肝癌奥沙利铂耐药中的作用机制。

GP73 是一种锚定在高尔基体膜上的跨膜糖蛋白,由 *GOLM1* 基因编码,参与多种上皮细胞的生理、病理活动。目前多项研究已证实 GP73 是一个关键的癌基因,具有诱导肝癌 EMT,促进侵袭、转移的功能^[19]。为探讨奥沙利铂耐药与 GP73 诱导的 EMT 之间的关系,本研究应用 Western blotting 法检测 HepG2 亲本和耐药细胞中 GP73 及 EMT 相关分子的表达。结果显示,耐药细胞中 GP73、*N-cadherin* 及 *Vimentin* 均上调,而 *E-cadherin* 下调,差异均有统计学意义,提示 GP73 可能诱导 EMT 导致肝癌细胞对奥沙利铂耐药。进一步对 GP73 这一关键分子靶

点进行干预,观察 GP73 过表达和敲低后对奥沙利铂耐药肝癌细胞 EMT 的影响,发现 GP73 过表达时奥沙利铂耐药的肝癌细胞发生 EMT,GP73 敲低时反之,说明 GP73 通过调节 EMT 进而影响肝癌细胞奥沙利铂耐药。

有研究表明,在肝癌中,花青苷通过靶向 PDK1-PI3K/Akt 信号通路抑制奥沙利铂诱导的 EMT,而 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1(PDK1)可以被认为是一个潜在的靶点^[20]。同样,BMP4 通过 MEK1/ERK/ELK1 信号通路诱导 EMT,从而促进奥沙利铂耐药,这一研究表明,BMP4 可能是肝癌患者接受奥沙利铂化疗的有价值的治疗靶点^[21]。GP73 作为奥沙利铂耐药的一个新靶点,有待于进行更深入的研究,以期探寻更多的临床应用价值和广阔的应用前景。

本研究结果表明,GP73 对人肝癌细胞奥沙利铂耐药具有促进作用,其作用机制可能是通过调节 EMT 的发生,从而影响肝癌细胞的侵袭和转移,为肿瘤耐药研究提供新的方向,为克服肝癌奥沙利铂耐药提供理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Bosch F X, Ribes J, Diaz M, et al. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127(5 Suppl 1): S5-S16.
- [2] Sim H W, Knox J. Hepatocellular carcinoma in the era of immunotherapy [J]. *Curr Probl Cancer*, 2018, 42(1): 40-48.
- [3] Yang J D, Roberts L R. Hepatocellular carcinoma: A global view [J]. *Nat Rev Gastro Hepat*, 2010, 7(8): 448-458.
- [4] Llovet J M, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma [J]. *Lancet*, 2003, 362(9399): 1907-1917.
- [5] Schwartz M, Roayaie S, Konstadoulakis M. Strategies for the management of hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2007, 4(7): 424-32.
- [6] Yen Y, Lim D W, Chung V, et al. Phase II Study of oxaliplatin in patients with unresectable, metastatic, or recurrent hepatocellular cancer: a california cancer consortium trial [J]. *Am J Clin Oncol*, 2008, 31(4): 317-322.
- [7] Kladney R D, Bulla G A, Guo L, et al. GP73, a novel golgi-localized protein upregulated by viral infection [J]. *Gene*, 2000, 249(1-2): 53-65.
- [8] Rich N, Singal A G. Hepatocellular carcinoma tumour

- markers: current role and expectations [J]. *Best Pract Res Clin Ga*, 2014, 28(5): 843-853.
- [9] Zhou Y, Yin X, Ying J, et al. Golgi protein 73 versus alpha-fetoprotein as a biomarker for hepatocellular carcinoma: a diagnostic Meta-analysis [J]. *BMC Cancer*, 2012, 12: 17.
- [10] Block T M, Comunale M A, Lowman M, et al. Use of targeted glycoproteomics to identify serum glycoproteins that correlate with liver cancer in woodchucks and humans [J]. *PNAS*, 2005, 102(3): 779-784.
- [11] Yang H J, Liu G L, Liu B, et al. GP73 promotes invasion and metastasis of bladder cancer by regulating the epithelial-mesenchymal transition through the TGF- β 1/Smad2 signalling pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22 (3): 1650-1665.
- [12] Song Y X, Xu Z C, Li H L, et al. Overexpression of GP73 promotes cell invasion, migration and metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer [J]. *Pancreatol*, 2018, 18(7): 812-821.
- [13] Yang Y, Liu Q, Li Z P, et al. GP73 promotes epithelial-mesenchymal transition and invasion partly by activating TGF- β 1/Smad2 signaling in hepatocellular carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2018, 39(7): 900-910.
- [14] Pastushenko I, Blanpain C. EMT transition states during tumor progression and metastasis [J]. *Trends Cell Biol*, 2019, 29(3): 212-226.
- [15] Thiery J P, Acloque H, Huang R Y, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease [J]. *Cell*, 2009, 139(5): 871-890.
- [16] Ahmed N, Abubaker K, Findlay J, et al. Epithelial mesenchymal transition and cancer stem cell-like phenotypes facilitate chemoresistance in recurrent ovarian cancer [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2010, 10 (3): 268-278.
- [17] Thiery J P. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(6): 442-454.
- [18] Martinez-Balibrea E, Martínez-Cardús A, Martínez-Cardús A, et al. Tumor-related molecular mechanisms of oxaliplatin resistance [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(8): 1767-1776.
- [19] Chen X X, Wang Y N, Tao J, et al. mTORC1 up-regulates GP73 to promote proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells and growth of xenograft tumors in mice [J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(3): 741-752.
- [20] Li X, Zhang Z S, Zhang X H, et al. Cyanidin inhibits EMT induced by oxaliplatin via targeting the PDK1-PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Food Funct*, 2019, 10 (2): 592-601.
- [21] Ma J, Zeng S, Zhang Y, et al. BMP4 promotes oxaliplatin resistance by an induction of epithelial-mesenchymal transition via MEK1/ERK/ELK1 signaling in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2017, 411: 117-129.

[责任编辑 兰新新]