

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.06.005

汉黄芩素通过调控上皮间质转化抑制胃癌细胞的侵袭转移*

戴金芬¹ 吴鹏波² 朱 珊³ 王 波¹ 胡 松¹ 陈 怡¹(1 华中科技大学同济医学院附属同济医院 消化内科 湖北 武汉 430030; 2 武汉大学人民医院 消化内科 湖北 武汉 430060;
3 武汉大学人民医院 乳腺甲状腺外科 湖北 武汉 430060)

摘要 目的:汉黄芩素是中药黄芩中的一种黄酮,具有体内外抗癌活性。然而,汉黄芩素对人胃癌细胞的作用尚不十分清楚。本研究拟探讨汉黄芩素对人胃癌细胞 MGC-803 侵袭转移能力的影响及其对上皮间质转化 (Epithelial to Mesenchymal Transition, EMT) 的作用机制。**方法:**采用 MTT 法测定汉黄芩素对人胃癌细胞 MGC-803 增殖能力的影响,通过划痕实验、Transwell 试验检测汉黄芩素对人胃癌细胞 MGC-803 迁移、侵袭能力的影响。通过免疫印迹法和免疫荧光法分析汉黄芩素对 EMT 的影响。**结果:**20 μ M 以上浓度的汉黄芩素能抑制人胃癌细胞 MGC-803 的增殖,不同浓度的汉黄芩素能抑制人胃癌细胞 MGC-803 的迁移和侵袭,且呈浓度依赖性。此外,汉黄芩素能抑制间质标记蛋白波形蛋白(Vimentin)和锌指蛋白 E- 盒结合同源异形盒-1(ZEB1)的表达,促进上皮标记蛋白 E- 钙黏蛋白(E-cadherin)的表达。**结论:**汉黄芩素能抑制胃癌细胞的侵袭和迁移,这一作用可能与其抑制 EMT 的发生有关。

关键词:汉黄芩素;胃癌;EMT;迁移;侵袭

中图分类号:R-33;R735.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2020)06-1022-06

Wogonin Inhibition of Cell Migration and Invasion in Human Gastric Cancer by Disruption of Epithelial-mesenchymal Transition*

DAI Jin-fen¹, WU Peng-bo², ZHU Shan³, WANG Bo¹, HU Song¹, CHEN Yi¹(1 Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, 430030, China; 2 Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430060, China;
3 Department of Thyroid Breast Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430060, China)

ABSTRACT Objective: Wogonin, a flavone identified in *Scutellariae radix*, shows in vitro and in vivo anti-cancer properties. However, the mechanism of action of wogonin on human gastric cancer (GC) cells remains unclear. Herein, this study was performed to investigate the influence of wogonin on cell migration and invasion in human GC cells MGC803 and its role in epithelial-mesenchymal transition (EMT). **Methods:** Effect on cell proliferation of human GC cells MGC803 was assessed by 3-(4,5)-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay. Wound-healing, transwell migration, and invasion assays were carried out to determine changes in MGC-803 cell migration and invasion. The influence of the wogonin on EMT was analyzed by both Western blotting and immunofluorescence. **Results:** Wogonin with the concentration of more than 20 μ M effectively suppressed the proliferation of human GC MGC-803 cells. Different concentrations of wogonin inhibited the migration and invasion of human GC MGC-803 cells in a concentration-dependent manner. Furthermore, the application of wogonin resulted in the down-regulation of the mesenchymal biomarkers vimentin and ZEB1 but up-regulated the epithelial biomarker E-cadherin. **Conclusions:** Our findings indicate that wogonin imparts inhibitory effects on cell invasion and migration in GC, possibly by disrupting EMT.

Key words: Wogonin; Gastric cancer; Epithelial-mesenchymal transition; Migration; Invasion

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)06-1022-06

前言

胃癌是世界上第四大常见的恶性肿瘤,也是癌症死亡的第二大主要原因^[1]。有研究表明,胃癌在中国是第三大恶性肿瘤,死亡率是世界上最高的^[2]。在大多数患者中,胃癌在肿瘤转移或晚期才被发现。尽管胃癌的手术方法或辅助化疗已有很大的进

展,胃癌晚期患者的存活率仍然很低^[3]。晚期或转移性胃癌患者的总生存期中位数不到一年^[4]。因此,寻找胃癌更有效的治疗措施以提高治疗效果势在必行。

EMT 是细胞失去上皮表型并获得间质表型的一种行为^[5],是很多肿瘤的关键调控因素^[6,7]。EMT 诱导细胞发生改变,例如间充质特异性标记物如 Vimentin 的表达增加,上皮特异性蛋

* 基金项目:湖北省科技厅青年基金项目(2018CFB236)

作者简介:戴金芬(1988-),博士研究生,主治医师,主要研究方向:消化道肿瘤,E-mail:brilliant_510@126.com,电话:15172492616

(收稿日期:2019-10-08 接受日期:2019-10-31)

白如 E-cadherin 的表达减少^[8,9],从而增加癌细胞的活性。据报道,EMT 在胃癌细胞转移和侵袭过程中起着重要作用^[10-12]。因此,EMT 可能成为胃癌药物治疗的重要靶点。

汉黄芩素是植物黄芩中的一种黄酮类化合物。汉黄芩素具有多种生物学活性,包括抗癌^[13-15]、抗炎^[16]、抗氧化^[17]、抗血管生成^[18]、抗焦虑^[19]、抗肝炎^[20]、抗惊厥^[21]和神经保护^[22]作用。近年来,汉黄芩素已被证实能在体外抑制乳腺癌^[23]、胆囊癌^[24]、黑色素瘤^[25]和肺癌^[26,27]的转移。然而,汉黄芩素能否抑制胃癌细胞的侵袭和迁移及其可能的作用机制目前尚不清楚。本研究探讨汉黄芩素对胃癌细胞 MGC-803 的迁移和侵袭作用。此外,鉴于 EMT 在癌细胞转移中的重要性,我们进一步研究了汉黄芩素在 EMT 中的作用。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和材料

汉黄芩素、二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)、MTT 购自美国 Sigma 公司。汉黄芩素溶解在 100% DMSO 中作为原溶液在 -20℃ 保存。本研究确定的 DMSO 最佳浓度为 <0.1% (该浓度不影响细胞增殖或迁移)。兔抗 E-cadherin 单克隆抗体、兔抗 Vimentin 单克隆抗体、兔抗 β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体购自 CST (Cell Signaling Technology) 公司,山羊抗 ZEB1 多克隆抗体购自 Abcam 公司。辣根过氧化物酶标记的鼠抗羊二抗、辣根过氧化物酶标记的鼠抗兔二抗购自 Santa Cruz 公司。BCA 试剂盒购自美国 Thermo 公司。ECL 化学发光试剂盒购自 Pierce 公司。

1.2 细胞培养

人 MGC-803 细胞由中国科学院细胞库提供。采用含 10% 胎牛血清和 100 U/mL 抗生素(青霉素和链霉素)的 DMEM/F12 培养基,在 37℃、5% CO₂ 饱和湿度的恒温培养箱中培养。

1.3 细胞活力测定

将细胞接种到 96 孔板中,每个孔具有 1×10^5 的细胞密度。将不同浓度 (0 μ M、10 μ M、20 μ M、40 μ M、80 μ M 和 160 μ M) 的汉黄芩素加入每个孔中培养 24 小时。然后每个孔中加入 0.5% MTT 约 20 μ L,然后在 37℃ 下再孵育 4 小时,每孔中加入 100 μ L DMSO 后振荡 10 min,最后,用酶标仪检测细胞在 570 nm 波长下的吸光度值(A 值)。实验重复 3 次。

1.4 划痕实验

通过划痕实验评估细胞迁移能力。将 MGC-803 细胞接种于六孔板,当附着在平板上的细胞获得 80% 的融合度时,使用无菌的 200 μ L 移液器吸头在板底划一直线,随后用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 2 次以去除漂浮的细胞,随后用不同浓度的汉黄芩素或不含汉黄芩素的培养液对细胞进行孵育,于 0h、24h、48 h 用倒置显微镜拍照确定划痕的宽度(细胞间距),细胞间距越大,说明迁移能力越低。实验重复 3 次。

1.5 Transwell 实验

将 Matrigel 基质胶铺于 Transwell 小室的上层,并在 37℃ 孵育 1 小时,将大约 5×10^5 mL MGC-803 细胞重新悬浮于含不同浓度汉黄芩素的无血清培养基中,接种于 Transwell 小室上层,将含 10% 胎牛血清的培养基加入 Transwell 小室下层,

于 37℃ 培养 24 小时后,使用棉签去除小室表面的细胞和 Matrigel 基质胶。用 100% 甲醇固定侵入下室表面的细胞,用吉姆萨染液染色后在显微镜下拍照和计数,取细胞数平均值评估细胞的侵袭能力。Transwell 迁移实验方法除了小室不需要加 Matrigel 基质胶外,其余同侵袭实验。抑制率=(对照组穿膜细胞数 - 实验组穿膜细胞数)/对照组穿膜细胞数 $\times$ 100%。

1.6 Western blotting 试验

用蛋白裂解液从细胞中提取蛋白质,并采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度,然后,用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白质,将蛋白质转移到硝酸纤维素(Nitrocellulose, NC)膜上,用含 5% 牛血清白蛋白(BSA)和 0.1% 吐温-20 (TBS-T) 的 Tris 盐缓冲液(TBS)封闭后,在 4℃ 下与一抗孵育过夜,然后再与辣根过氧化物酶标记的二抗孵育,最后采用化学发光试剂(ECL)显影。

1.7 细胞免疫荧光

细胞接种于盖玻片上,用含或不含汉黄芩素的 10% 胎牛血清培养基培养 24 h,将细胞用 4% 多聚甲醛固定 30 min,然后用 0.1% Triton X-100 通透 10-15 min,最后,在室温下在 5% 牛血清白蛋白中封闭 1 h,将样品与一抗在 4℃ 孵育过夜,此后,用 PBS 洗涤细胞,在室温下用与异硫氰酸荧光素(FITC)标记的二抗孵育 1 h,用 4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染细胞核,在荧光显微镜下观察细胞、拍照。

1.8 统计分析

每个实验重复三次,连续变量采用平均值 $\pm$ 标准差表示。采用非配对 t 检验评估各组之间的统计学差异。 P 值 <0.05 表示有统计学意义。所有数据均使用 SPSS 15.0 软件进行分析。

2 结果

2.1 汉黄芩素对 MGC-803 细胞增殖的影响

MTT 检测结果显示汉黄芩素对 MGC-803 细胞有细胞毒性。用汉黄芩素处理 24 h 后,MGC-803 细胞的增殖被抑制,且这种抑制作用呈浓度依赖性(图 1)。0-20 μ M 浓度的汉黄芩素对 MGC-803 细胞的细胞毒性作用较微弱。40 μ M 以上浓度的汉黄芩素对 MGC-803 细胞增殖有显著的抑制作用。为减少汉黄芩素的细胞毒性作用对迁移、侵袭试验的影响,在后续的实验,我们采用 0-20 μ M 的药物浓度。

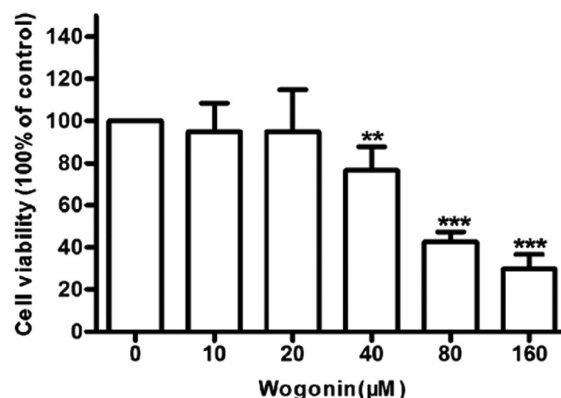


图 1 汉黄芩素对 MGC-803 细胞活力的影响

Fig.1 Effect of wogonin on MGC-803 cell viability

Note: ** P <0.01, *** P <0.001 relative to the control group.

2.2 汉黄芩素对 MGC-803 细胞迁移的影响

根据 MTT 试验的结果,采用划痕试验和 Transwell 迁移试验研究 5, 10, and 20 μM 的汉黄芩素对 MGC-803 细胞迁移的

影响。如图 2 和图 3 所示,汉黄芩素可以显著抑制 MGC-803 细胞的迁移。

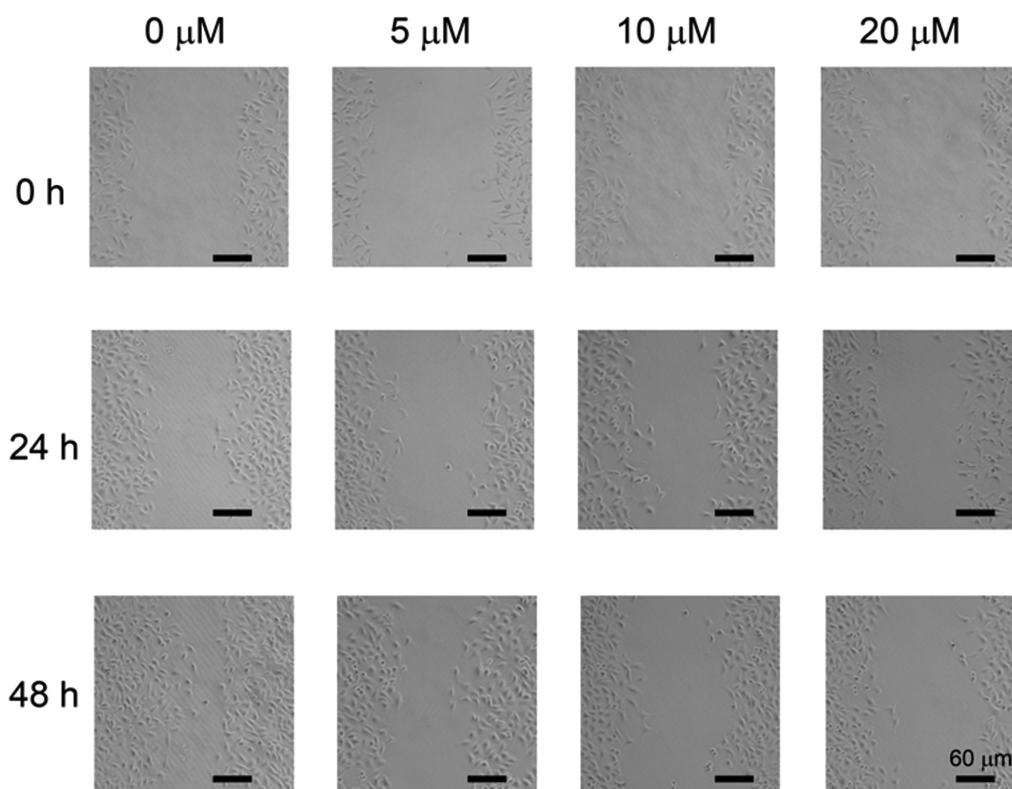


图 2 划痕试验检测汉黄芩素对 MGC-803 细胞迁移的影响

Fig.2 Wound healing assay involving MGC-803 cells exposed to wogonin

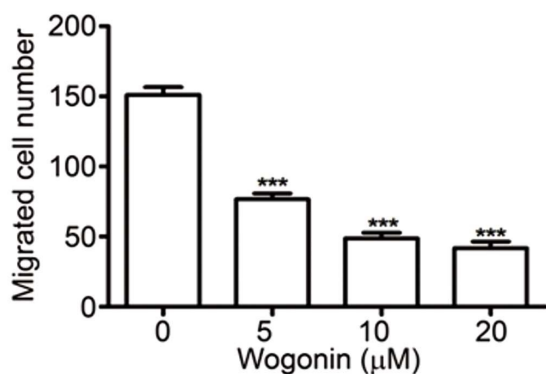
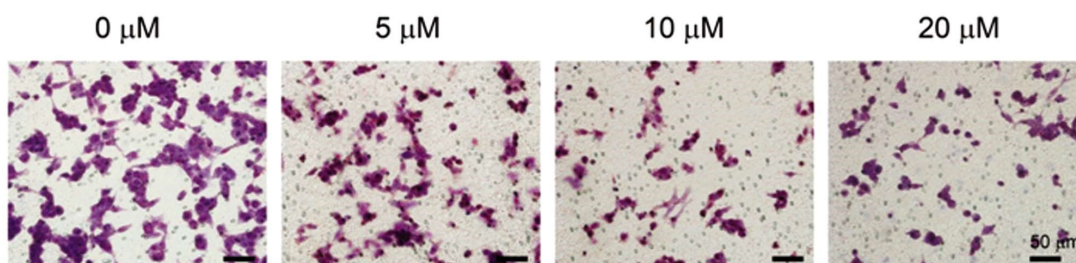


图 3 Transwell 试验检测汉黄芩素对 MGC-803 细胞迁移的影响

Fig.3 Effect of wogonin on MGC-803 cell migration determined by Transwell assays

Note: *** $P < 0.001$ relative to the control group.

2.3 汉黄芩素对 MGC-803 细胞侵袭的影响

图 4 显示,处理 24 h 后,汉黄芩素显著抑制了 MGC-803

细胞的侵袭。5、10 和 20 μM 汉黄芩素对 MGC-803 细胞侵袭的抑制率分别为 55.1%、68.3%和 80.7%。

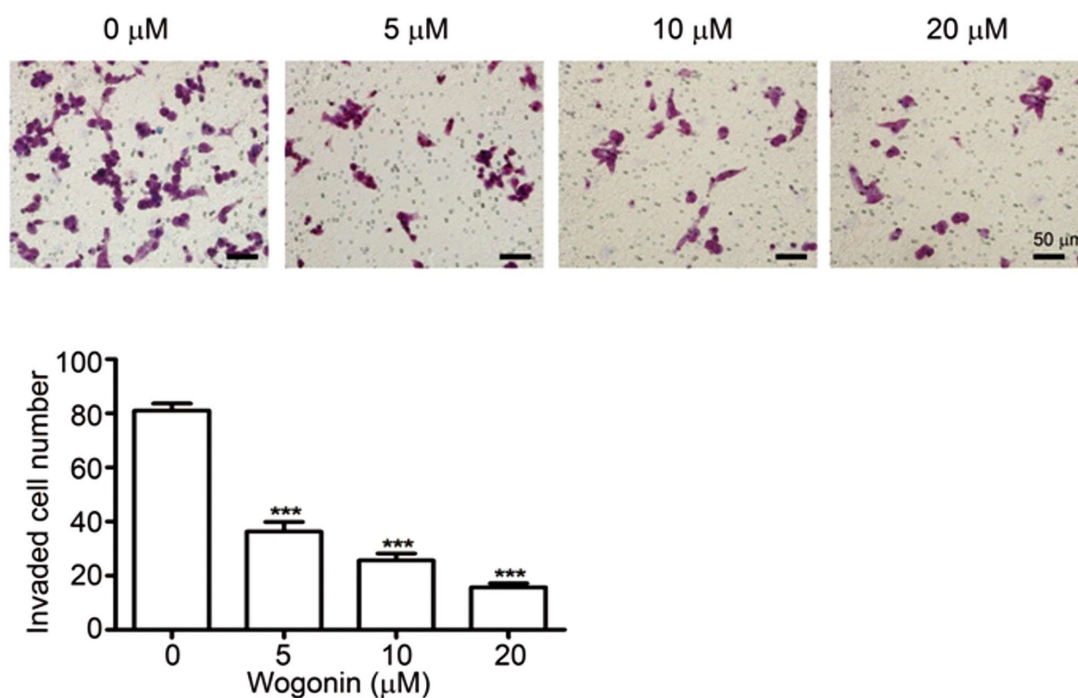


图4 Transwell 试验检测汉黄芩素对 MGC-803 细胞侵袭的影响

Fig.4 Effect of wogonin on MGC-803 cell invasion determined by Transwell assays

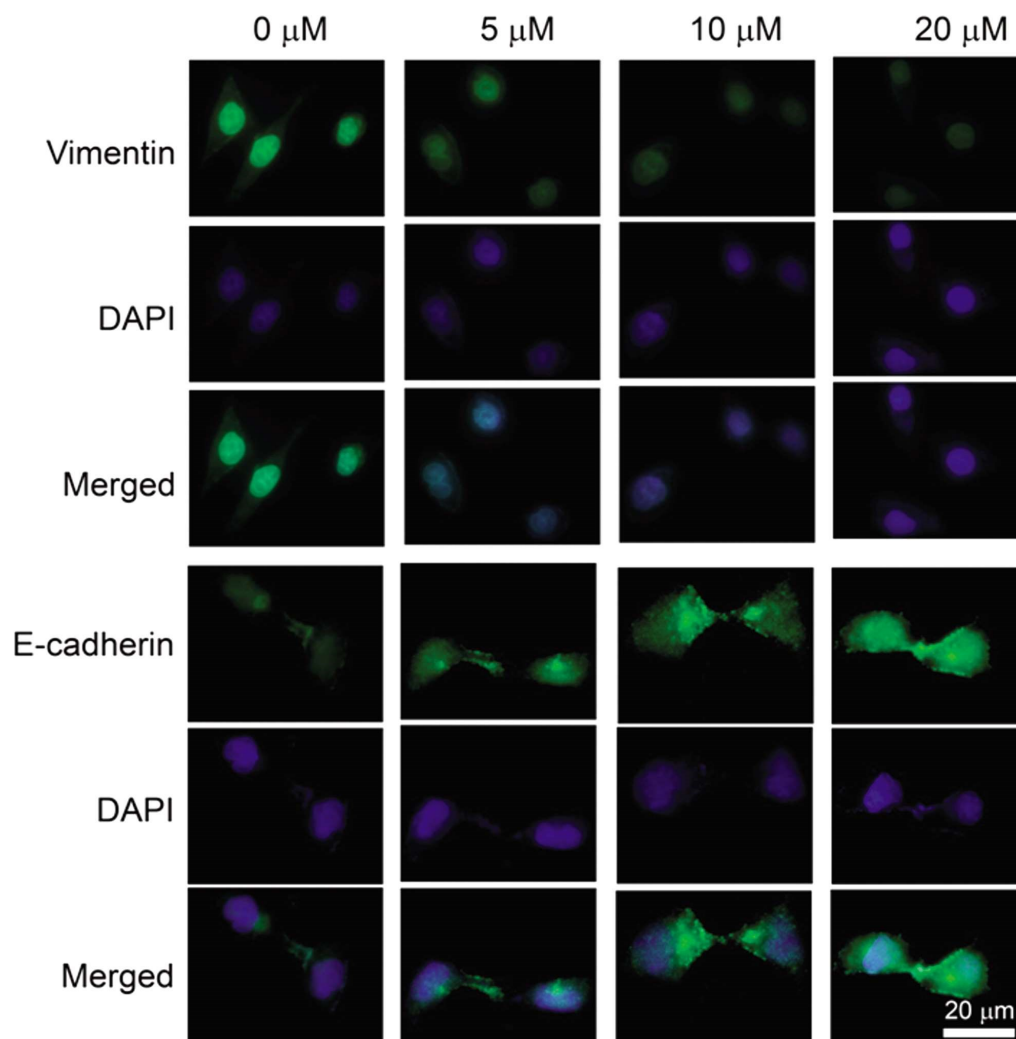
Note: *** $P < 0.001$ relative to the control group.

图5 免疫荧光检测汉黄芩素对 MGC-803 细胞中 E-cadherin 和 Vimentin 表达的影响

Fig.5 Immunofluorescence assay to assess the effect of wogonin on E-cadherin and vimentin expression in MGC-803 cells

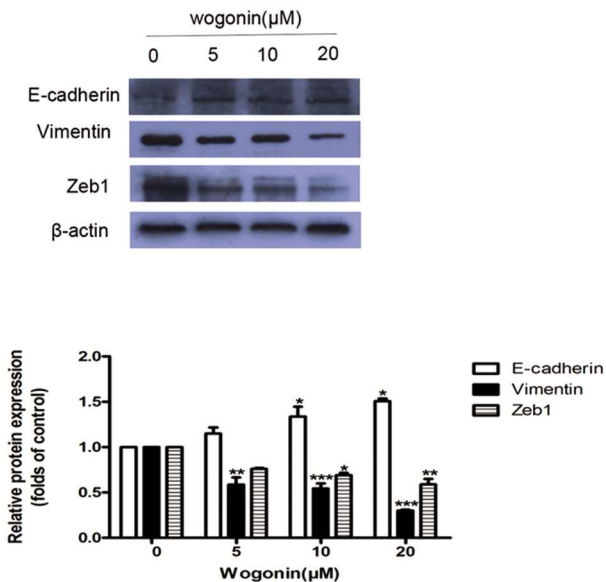


图6 EMT 相关标记物 E-cadherin 和 Vimentin 以及 ZEB1 蛋白在 MGC-803 细胞中的表达

Fig.6 Western blotting of EMT-associated markers E-cadherin and vimentin, as well as ZEB1 in MGC-803 cells

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, and *** $P < 0.001$ relative to the control group.

2.4 汉黄芩素对 MGC-803 细胞 EMT 的影响

基于我们前期的研究发现,汉黄芩素能抑制 MGC-803 细胞体外的迁移和侵袭,于是我们进一步研究汉黄芩素对 MGC-803 细胞 EMT 的影响,以探讨其可能的作用机制。细胞免疫荧光结果显示,汉黄芩素能使 E-cadherin 表达上调,同时可使 Vimentin 表达下调(图 5)。Western blotting 结果显示汉黄芩素能增加 E-cadherin 蛋白的表达,减少 Vimentin 蛋白表达,此外,汉黄芩素处理 24 小时后,ZEB1 蛋白表达下降,这与 Vimentin 表达一致,但与 E-cadherin 表达相反(图 6)。

3 讨论

肿瘤转移是一个多步骤的复杂过程,与患者的发病率和死亡率密切相关,其中肿瘤细胞的侵袭是最重要和最具特征的步骤^[28]。不幸的是,在中国,许多胃癌患者在肿瘤转移后才被诊断出来^[29]。目前,转移性胃癌的治疗方法仍然有限。汉黄芩素是一种中药黄芩中的植物黄酮,具有体内外抗癌活性^[23]。近年来,已有研究表明汉黄芩素对胃癌有抑制作用。Zhao^[30]等人的研究证明汉黄芩素可以通过诱导胃癌细胞凋亡从而增强低剂量 5-氟尿嘧啶的抗肿瘤作用。在 Wang^[31]等人的研究中,汉黄芩素呈时间和浓度依赖性抑制胃癌 SGC-7901 细胞增殖,并且还抑制了 SGC-7901 细胞的能量代谢及血管生成。此外,有研究显示,汉黄芩素可呈浓度依赖性抑制胃癌细胞 BGC-823、MGC-803、MKN-45、HGC-27 的增殖,并且与顺铂、紫杉醇有协同抑制作用,体内研究也显示汉黄芩素与低剂量紫杉醇联合使用可协同抑制胃癌增长^[32]。汉黄芩素的抗肿瘤侵袭作用目前也得到了研究证实^[23-27]。然而,汉黄芩素是否对胃癌细胞有抗转移作用及其可能的作用机制还不十分清楚。张永海^[33]的研究显示汉黄芩素能诱导 SGC-7901 胃癌细胞凋亡,并能抑制其增殖、迁移和侵袭。有研究发现汉黄芩素对胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭作用在胃癌细胞系 BGC-823 和 MKN45 中也同样存在,并且汉黄芩

素能抑制 JAK1/2 的表达,下调胃癌细胞的 JAK/STAT3 通路活性^[34]。本研究结果显示汉黄芩素可呈浓度依赖性抑制 MGC-803 胃癌细胞增殖,通过划痕及 Transwell 实验观察到汉黄芩素对 MGC-803 胃癌细胞的迁移和侵袭也有抑制作用,且这种抑制作用呈浓度依赖性。我们的研究结果与现有的文献报道相一致,此外,为探讨汉黄芩素抑制胃癌细胞迁移、侵袭的分子机制,我们还进一步研究了汉黄芩素对 MGC-803 胃癌细胞 EMT 的影响。

EMT 属于实体肿瘤进展的早期阶段,它可使肿瘤细胞从低级恶性肿瘤转化为高级恶性肿瘤^[35,36]。越来越多的证据表明,EMT 是肿瘤侵袭和转移的关键步骤^[37,38]。上皮细胞中细胞-细胞黏附的丧失以及间质细胞特征的获得是 EMT 的特征,这使得细胞更具能动性 and 侵袭性。因此,抑制 EMT 被认为是抗肿瘤转移的有效策略^[39]。我们研究了汉黄芩素对 EMT 的影响,特别是在抑制胃癌 MGC-803 细胞转移方面。我们的研究结果显示,汉黄芩素通过上调上皮标志物 E-cadherin 和下调间质标志物 Vimentin 有效抑制 EMT 过程。我们的研究表明汉黄芩素对 MGC-803 细胞的抗侵袭作用可能部分归因于对 EMT 的抑制。

在 EMT 过程中,各种转录因子如 SNAIL、TWIST 和 ZEB 诱导基因表达发生变化,这会抑制上皮表型并诱导间质表型的表达^[6]。ZEB1(也被称为 deltaEF1 或 AREB6)和 ZEB2(通常被称为 Smad 相互作用蛋白 1 (SIP1))属于锌指同源盒 E-钙粘蛋白抑制物家族^[40]。ZEB1 和 ZEB2 能够通过与 CDH1 启动子内的 E-box 元件结合并相互作用来抑制其活性,从而激活 EMT^[40,41]。此外,ZEB1 还可以通过下调基底膜成分和细胞极性蛋白表达来促进 EMT 的发生。有研究表明,ZEB1 可以通过诱导一个与 microRNA 相关的负反馈回路来稳定 EMT。我们在研究中检测了 ZEB1 蛋白的表达水平,发现汉黄芩素能抑制 ZEB1 蛋白的表达,这表明汉黄芩素可以通过调节转录因子来抑制 EMT。

综上所述,我们的研究表明汉黄芩素具有抑制胃癌细胞 MGC-803 体外侵袭和迁移的能力,该作用可能通过抑制细胞 EMT 过程而产生。这些结果表明汉黄芩素可能用于胃癌的治疗,特别是转移性胃癌。本研究为胃癌的药物治疗提供了新的思路,为新药研发提供了研究基础。

参考文献 (References)

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008[J]. CA Cancer J Clin, 2008, 58(2): 71-96
- [2] Yang L. Incidence and mortality of gastric cancer in China[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(1): 17-20
- [3] Li J, Deng Z, Wang Z, et al. Zipper-interacting protein kinase promotes epithelial-mesenchymal transition, invasion and metastasis through AKT and NF- κ B signaling and is associated with metastasis and poor prognosis in gastric cancer patients [J]. Oncotarget, 2015, 6 (10): 8323-8338
- [4] Cervantes A, Roda D, Tarazona N, et al. Current questions for the treatment of advanced gastric cancer [J]. Cancer Treat Rev, 2013, 39 (1): 60-67
- [5] Guarino M, Rubino B, Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology[J]. Pathology, 2007, 39(3): 305-318
- [6] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(3): 178-196

- [7] Moustakas A, Heldin P. TGF β and matrix-regulated epithelial to mesenchymal transition [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840 (8): 2621-2634
- [8] Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6): 1429-1437
- [9] Benzoubir N, Mussini C, Lejamel C, et al. Gamma-smooth muscle actin expression is associated with epithelial-mesenchymal transition and stem-like properties in hepatocellular carcinoma [J]. *PloS one*, 2015, 10(6): e0130559
- [10] Ohta H, Aoyagi K, Fukaya M, et al. Cross talk between hedgehog and epithelial-mesenchymal transition pathways in gastric pit cells and in diffuse-type gastric cancers[J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(2): 389-398
- [11] Rosivatz E, Becker I, Specht K, et al. Differential expression of the epithelial-mesenchymal transition regulators snail, SIP1, and twist in gastric cancer[J]. *Am J Pathol*, 2002, 161(5): 1881-1891
- [12] Castro Alves C, Rosivatz E, Schott C, et al. Slug is overexpressed in gastric carcinomas and may act synergistically with SIP1 and Snail in the down-regulation of E-cadherin[J]. *J Pathol*, 2007, 211(5): 507-515
- [13] Li-Weber M. New therapeutic aspects of flavones: the anticancer properties of Scutellaria and its main active constituents Wogonin, Baicalein and Baicalin[J]. *Cancer Treat Rev*, 2009, 35(1): 57-68
- [14] Baumann S, Fas SC, Giaisi M, et al. Wogonin preferentially kills malignant lymphocytes and suppresses T-cell tumor growth by inducing PLC γ 1- and Ca²⁺-dependent apoptosis [J]. *Blood*, 2008, 111 (4): 2354-2363
- [15] Wang W, Guo QL, You QD, et al. The anticancer activities of wogonin in murine sarcoma S180 both in vitro and in vivo [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(6): 1132-1137
- [16] Chi YS, Cheon BS, Kim HP. Effect of wogonin, a plant flavone from Scutellaria radix, on the suppression of cyclooxygenase-2 and the induction of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2001, 61 (10): 1195-1203
- [17] Gao Z, Huang K, Yang X, et al. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of Scutellaria baicalensis Georgi[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1472(3): 643-650
- [18] Lu N, Gao Y, Ling Y, et al. Wogonin suppresses tumor growth in vivo and VEGF-induced angiogenesis through inhibiting tyrosine phosphorylation of VEGFR2[J]. *Life Sci*, 2008, 82(17-18): 956-963
- [19] Hui KM, Huen MS, Wang HY, et al. Anxiolytic effect of wogonin, a benzodiazepine receptor ligand isolated from Scutellaria baicalensis Georgi[J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 64(9): 1415-1424
- [20] Guo Q, Zhao L, You Q, et al. Anti-hepatitis B virus activity of wogonin in vitro and in vivo[J]. *Antiviral Res*, 2007, 74(1): 16-24
- [21] Park HG, Yoon SY, Choi JY, et al. Anticonvulsant effect of wogonin isolated from Scutellaria baicalensis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 574 (2-3): 112-119
- [22] Lim JS, Yoo M, Kwon HJ, et al. Wogonin induces differentiation and neurite outgrowth of neural precursor cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 402(1): 42-47
- [23] Chen P, Lu N, Ling Y, et al. Inhibitory effects of wogonin on the invasion of human breast carcinoma cells by downregulating the expression and activity of matrix metalloproteinase-9 [J]. *Toxicology*, 2011, 282(3): 122-128
- [24] Dong P, Zhang Y, Gu J, et al. Wogonin, an active ingredient of Chinese herb medicine Scutellaria baicalensis, inhibits the mobility and invasion of human gallbladder carcinoma GBC-SD cells by inducing the expression of maspin [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137 (3): 1373-1380
- [25] Zhao K, Wei L, Hui H, et al. Wogonin suppresses melanoma cell B16-F10 invasion and migration by inhibiting Ras-mediated pathways[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e106458
- [26] Zhao Y, Yao J, Wu XP, et al. Wogonin suppresses human alveolar adenocarcinoma cell A549 migration in inflammatory microenvironment by modulating the IL-6/STAT3 signaling pathway [J]. *Mol Carcinog*, 2015, 54 Suppl 1: E81-93
- [27] Gong WY, Wu JF, Liu BJ, et al. Flavonoid components in Scutellaria baicalensis inhibit nicotine-induced proliferation, metastasis and lung cancer-associated inflammation in vitro [J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(5): 1561-1570
- [28] Wang S, Liu Q, Zhang Y, et al. Suppression of growth, migration and invasion of highly-metastatic human breast cancer cells by berbamine and its molecular mechanisms of action [J]. *Mol Cancer*, 2009, 8: 81-81
- [29] Li LC, Peng Y, Liu YM, et al. Gastric cancer cell growth and epithelial-mesenchymal transition are inhibited by γ ?secretase inhibitor DAPT[J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(6): 2160-2164
- [30] Zhao Q, Wang J, Zou MJ, et al. Wogonin potentiates the antitumor effects of low dose 5-fluorouracil against gastric cancer through induction of apoptosis by down-regulation of NF-kappaB and regulation of its metabolism[J]. *Toxicol Lett*, 2010, 197(3): 201-210
- [31] Wang SJ, Zhao JK, Ren S, et al. Wogonin affects proliferation and the energy metabolism of SGC-7901 and A549 cells [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(1): 911-918
- [32] Wang T, Gao J, Yu J, et al. Synergistic inhibitory effect of wogonin and low-dose paclitaxel on gastric cancer cells and tumor xenografts [J]. *Chin J Cancer Res*, 2013, 25(5): 505-513
- [33] 张永海. 汉黄芩素体外对胃癌 SGC-7901 细胞增殖、迁移和侵袭的实验性研究[J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(2): 89-95
- [34] 赵慧. 汉黄芩素抑制胃癌的作用及其机制研究[D]. 山东: 山东大学基础医学院, 2018
- [35] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2003, 15(6): 740-746
- [36] Thompson EW, Torri J, Sabol M, et al. Oncogene-induced basement membrane invasiveness in human mammary epithelial cells [J]. *Clin Exp Metastasis*, 1994, 12(3): 181-194
- [37] Zhao L, Li W, Zang W, et al. JMJD2B promotes epithelial-mesenchymal transition by cooperating with β -catenin and enhances gastric cancer metastasis[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(23): 6419-6429
- [38] Peng Z, Wang CX, Fang EH, et al. Role of epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer initiation and progression[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(18): 5403-5410
- [39] Tsai JH, Yang J. Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis[J]. *Genes Dev*, 2013, 27(20): 2192-2206
- [40] Sintov E, Nathan G, Knoller S, et al. Inhibition of ZEB1 expression induces redifferentiation of adult human β cells expanded in vitro[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 13024-13024
- [41] Eger A, Aigner K, Sonderegger S, et al. DeltaEF1 is a transcriptional repressor of E-cadherin and regulates epithelial plasticity in breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2005, 24(14): 2375-2385