

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.13.006

NOK 在雌激素促进肺腺癌细胞系上皮间质转化过程中的作用 *

李 哲¹ 卢 强² 陈 晓³ 张继朋² 王武平² 范晓东^{1Δ}

(1 西安市第九医院胸外科 陕西 西安 710032; 2 空军军医大学唐都医院胸外科 陕西 西安 710049;

3 空军济南基地门诊部 山东 济南 250033)

摘要 目的:探讨 NOK(Novel Oncogene with Kinase-domain: 蛋白酪氨酸激酶结构域新基因)在雌激素促进肺腺癌细胞系上皮间质转化过程中的作用。**方法:**实验共分四组,其中第一组细胞 NOK 基因不下调,不加雌激素,为空白对照组,第二组细胞 NOK 基因下调,不加雌激素,第三组细胞 NOK 基因不下调,加雌激素,第四组细胞 NOK 基因下调,加雌激素。用慢病毒下调 A549 细胞系中 NOK 基因表达量,并用浓度为 1×10^{-8} mol/L 的雌激素刺激各组细胞,用 q-RT-PCR 及 Western blot 方法检测各组细胞中 NOK 和 EMT 标志物表达量,用 Transwell 实验检测各组细胞的迁移能力。**结果:**相比于第一组,第二组细胞中 NOK 和 Vimentin 表达量降低、E-cadherin 表达量增高,分别为 0.09 ± 0.01 、 0.16 ± 0.02 、 4.83 ± 0.61 ,与第一组有统计学差异;第三组细胞中 NOK 和 Vimentin 表达量显著增高、E-cadherin 表达量显著降低,分别为 6.03 ± 0.92 、 5.77 ± 0.86 、 0.33 ± 0.04 ,与第一组有统计学差异;第四组细胞中 NOK 和 Vimentin 表达量降低、E-cadherin 表达量增高,分别为 0.11 ± 0.01 、 0.19 ± 0.03 、 4.92 ± 0.59 ,与第一组有统计学差异,与第二组无统计学差异。各组细胞中 NOK 和 EMT 标志物的蛋白表达量与 mRNA 表达量的趋势一致。第二组细胞迁移数显著低于第一组,组间有统计学差异,第三组细胞迁移数显著高于第一组,组间有统计学差异,第四组细胞迁移数显著低于第一组,组间有统计学差异。**结论:**雌激素可以促进肺腺癌细胞系 EMT 过程,而下调 NOK 基因表达可以阻断这一过程,由此认为,雌激素可以通过 NOK 调控肺腺癌 EMT 过程。

关键词: NOK; 肺腺癌; 上皮间质转化

中图分类号: R-33; R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2021)13-2427-05

The Role of NOK in the Process of Epithelial Stromal Transformation of Lung Adenocarcinoma Cell Line Promoted by Estrogen*

LI Zhe¹, LU Qiang², CHEN Xiao³, ZHANG Ji-peng², WANG Wu-ping², FAN Xiao-dong^{1Δ}

(1 Department of Thoracic Surgery, The Ninth Hospital of Xi'an, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Thoracic Surgery, Tangdu Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710049, China;

3 Department of Outpatient, Jinan Air Force Base, Ji'nan, Shandong, 250033, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the role of NOK in the process of epithelial stromal transformation of lung adenocarcinoma cell line promoted by estrogen. **Methods:** The experiment was divided into four groups, the NOK gene was not down regulated in the first group without estrogen, the NOK gene was down regulated in the second group without estrogen, the NOK gene was not down regulated in the third group with estrogen, the NOK gene was down regulated in the fourth group with estrogen. The NOK gene in A549 cell line was down regulated by lentivirus, the cells were stimulated by estrogen at a concentration of 1×10^{-8} mol/L, the expression of NOK and EMT markers in each group were detected by q-RT-PCR and Western blot, and the migration ability of cells in each group was detected by Transwell test. **Results:** The expression of NOK and Vimentin in the second group decreased and the expression of E-cadherin increased compared with the first group, which were 0.09 ± 0.01 , 0.16 ± 0.02 and 4.83 ± 0.61 , which were statistically different from the first group. The expression of NOK and Vimentin in the third group increased significantly and the expression of E-cadherin decreased, which were 6.03 ± 0.92 , 5.77 ± 0.86 and 0.33 ± 0.04 , which were statistically different from the first group. In the fourth group, the expression of NOK and vimentin decreased and the expression of E-cadherin increased, which were 0.11 ± 0.01 , 0.19 ± 0.03 and 4.92 ± 0.59 , there were statistical differences with the first group and no statistical differences with the second group. The trend of protein expression of NOK and EMT markers was consistent with that of mRNA expression. The number of cell migration in the second group was significantly lower than that in the first group, and there was statistical difference between the two groups. The number of cell migration in the third group was significantly higher than that in the first group, and there was statistical difference between the two groups. The number of cell migration in the fourth group was significantly lower than that in the first group, and there was statistical difference

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81572252)

作者简介: 李哲(1979-), 本科, 副主任医师, 主要研究方向: 肺和食管肿瘤, E-mail: 13572903345@163.com, 电话: 13572903345

Δ 通讯作者: 范晓东(1985-), 本科, 主治医师, 主要研究方向: 肺和食管肿瘤, E-mail: 87824832@qq.com

(收稿日期: 2020-12-28 接受日期: 2021-01-23)

between the two groups. **Conclusion:** Estrogen can promote the EMT process of lung adenocarcinoma cell lines, and down regulating the expression of NOK gene can block this process. Therefore, estrogen can regulate the EMT process of lung adenocarcinoma through NOK gene.

Key words: NOK; Lung adenocarcinoma; Epithelial stromal transformation

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)13-2427-05

前言

肺癌的发病率和死亡率逐年升高,对公众健康危害巨大,目前临床治疗手段主要有手术、放疗、化疗、靶向治疗、免疫治疗等^[1,2],对于早期肺癌患者效果较好,而对于晚期转移患者则疗效欠佳。肺癌主要通过血液、淋巴和局部扩散进行转移^[3],而上皮间质转化(Epithelial-mesenchymal transition, EMT)则是肿瘤转移的起始环节。EMT过程中主要的分子特征改变为上皮标志物 E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达量降低,间质细胞标志物波形蛋白(Vimentin)表达量升高^[4],主要细胞学改变为迁移能力增强。本课题组前期实验证实^[5],通过检测 E-cadherin 和 Vimentin 的表达量以及细胞迁移能力可以判断 A549 细胞系是否发生 EMT,浓度为 1×10^{-8} mol/L 的雌激素可以显著促进 A549 细胞系中 NOK 和 EMT 标志物的表达,结合以上文献回顾,我们猜测,雌激素有可能通过 NOK 促进肺腺癌细胞系的 EMT 过程。本实验拟采用慢病毒干涉 NOK 基因、q-RT-PCR、Western blot 及 Transwell 等方法来判断 NOK 是否参与了雌激素促进 A549 细胞系 EMT 的过程。现总结报告如下:

1 材料与方法

1.1 主要实验材料及分组

下表为本实验主要实验材料,其余实验材料为西安市第九医院胸外科实验室统一采购(表1)。实验共分4组,其中1组细胞 NOK 基因不做干涉,不加雌激素,2组细胞 NOK 基因下调,不加雌激素,3组细胞 NOK 基因不做干涉,加雌激素,4组细胞 NOK 基因下调,加雌激素。

表1 实验材料及厂家

Table 1 Experimental materials and manufacturers

Material	Manufactor
A549 Cell line	Thoracic Surgery Laboratory of Tangdu Hospital
Estrogen	Estradiol company
Vimentin monoclonal antibody	Abcam company
E-cadherin monoclonal antibody	Abcam company
β -actin monoclonal antibody	Abcam company
Reverse transcription Kit	Thermo company
Primer	Bioengineering Co., Ltd.
Lentivirus	Jikai gene company
NOK monoclonal antibody	Abcam company
Real time quantitative PCR	Funglyn Biotech company

1.2 用慢病毒构建 NOK 下调细胞系

1.2.1 慢病毒感染实验 接种细胞:用含有 10%胎牛血清的 1640 培养基培养细胞,制备浓度为 5×10^4 的单细胞悬液,接种于六孔板中,每孔加样 2 mL,常规培养 24 小时;病毒感染(三个病毒系列同时操作):根据使用说明推荐的培养体系和病毒滴度进行感染,10 小时后换成常规培养基,继续培养;待感染率达到 80%以后,收集细胞,行 RT-qPCR 和 Western-blot 实验,挑选干涉效率最高的病毒系列用于后续实验。

1.2.2 感染实验效果鉴定 三组病毒编号分别为:LV-STYK1-RNAi (24060-1)、LV-STYK1-RNAi(24057-4)、LV-STYK1-RNAi (24058-7),分别记为 NOK1 号、NOK2 号和 NOK3 号病毒。采用 RT-qPCR 和 Western-blot 实验方法,检测三组病毒以及对照组细胞中 NOK 表达量,选择干涉效率最高的病毒进行后续实验。

1.3 q-RT-PCR 检测各组细胞中 EMT 标志物的 mRNA 表达量

将细胞分 4 组,2、4 组行慢病毒感染,1、3 组常规培养,在细胞状态良好时,行慢病毒感染,3 天后用雌激素处理,1、2 组不加雌激素,3、4 组添加雌激素,细胞生长至对数生长期时,提取总 RNA,存放于 -80°C 冰箱中备用;用紫外分光光度计测总 RNA 浓度,每次测量前应先做空白对照,测每个样品之间应将仪器擦洗三遍;根据测量所得 RNA 浓度计算反转录需要的加样量,加样量最多不多于 11 μg ;荧光定量 PCR(20 μL 体系);每个样本设 3 个复孔,混匀,离心,分装入八连管,放入 PCR 仪,运行程序。

1.4 Western-blot 实验检测各组细胞中 EMT 标志物的蛋白表达量

将细胞分 4 组,2、4 组行慢病毒感染,1、3 组常规培养,在细胞状态良好时,行慢病毒感染,3 天后用雌激素处理,1、2 组不加雌激素,3、4 组添加雌激素,细胞生长至对数生长期时,提取总蛋白,取 20 μL 保存于 -20°C 冰箱,用来测蛋白浓度;配备 BCA 工作液,用去离子水稀释蛋白样品,做 3 个复孔,制作标准曲线,计算样品浓度;配分离胶和配浓缩胶,确保胶体均匀平整;正确连接正负极,精确控制加样量,合理安排电泳时间;配制电转缓冲液,将蛋白凝胶转移至 PVDF 膜上,恒流条件下转膜,小分子蛋白转膜条件为:60 mA、30 min,大分子蛋白转膜条件为 80 mA、30 min;配制 $1 \times$ TBST 溶液,配制封闭用脱脂牛奶,将带有目的蛋白的 PVDF 膜用 TBST 轻轻清洗,然后正面朝上放入已配制好的牛奶中,在摇床上缓慢摇晃封闭 2-3 小时(根据室温的不同调整封闭时间,室温低时可适当延长封闭时间);按照一定比例稀释抗体(NOK、E-cadherin、Vimentin 和 β -actin 抗体稀释浓度分别为:1:1000、1:2000、1:2000、1:2000,二抗稀释浓度为:1:10000),清洗,一抗孵育,清洗,二抗孵育;配置显色液,打开仪器,在电脑上运行程序,显色,保存图片。

1.5 Transwell 实验检测各组细胞迁移能力

将细胞分4组,按各分组要求处理细胞。常规培养 A549 细胞系,在 A549 细胞系状态良好时,2、4 组行慢病毒感染,1、3 组常规培养,1、2 组不加雌激素,3、4 组添加雌激素。3 天后,调整细胞浓度至 $1 \times 10^5/\text{mL}$,向各组小室中分别加入 200 μL 细胞悬液,加入 500 μL 含不同浓度雌激素的 1640 培养基;在细胞孵箱中培养 48 小时,用 PBS 冲洗小室三遍,并用棉签擦去小室内部的 Matrigel 胶和细胞,将小室放入 95%乙醇中固定 10 min,再放入 5%的结晶紫溶液中染色 30 min,用 PBS 冲洗干净,用棉签擦净小室内残留的染液;在 200 倍倒置相差显微镜下观察细胞,并在每个小室的上下左右中五个位置拍照,细胞计数;重复 7 次,统计数据,分析不同浓度雌激素对 A549 细胞系迁移能力的影响。

1.6 统计学分析

q-RT-PCR 及 Transwell 实验结果用 SPSS18.0 软件进行分

析,将七次实验的结果行统计分析,结果以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,各实验组分别与空白对照组进行比较, P 值 <0.05 表示组间差异有统计学意义。

2 结果

2.1 挑选 NOK 干扰效率较高的优势病毒

q-RT-PCR 结果显示:空病毒处理的细胞中 NOK 表达量与空白对照组基本一致,无显著性差异($P>0.05$),1 号病毒处理的细胞中 NOK 表达量显著降低,约为空白对照组的 7%,具有显著性差异($P<0.05$),2 号和 3 号病毒处理的细胞中 NOK 表达量略低于空白对照组,但是没有统计学差异($P>0.05$)(图 1,A 图)。Western-blot 结果也符合这一趋势(图 1,B 图),故选取 1 号病毒用于干扰 A549 细胞中 NOK 基因的表达。

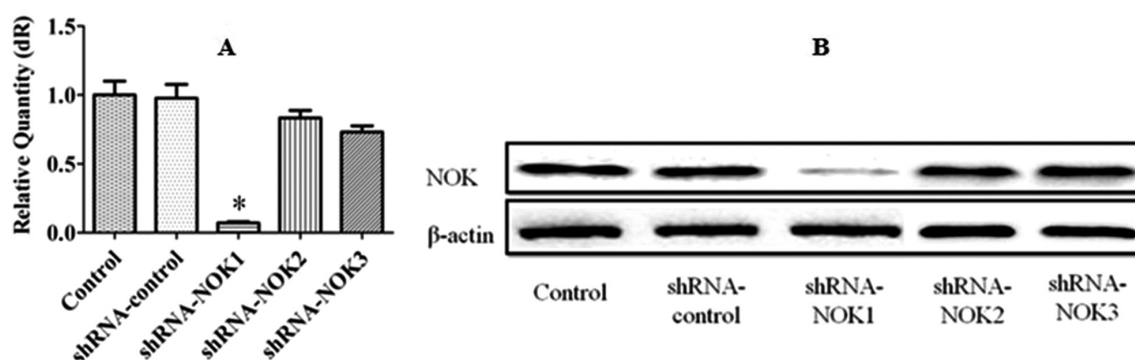


图1 各组病毒干涉 A549 细胞 NOK 表达率

Fig.1 NOK expression rate of A549 cells interfered by viruses in each group

*:与对照组相比, $P<0.05$ ($n=7$)

*: Compared with the control group, $P<0.05$ ($n=7$)

2.2 q-RT-PCR 检测各组细胞中 NOK 和 EMT 标志物 mRNA 表达量

A 图为 NOK 表达量,B 图为 Vimentin 表达量,C 图 E-cadherin 为表达量。相比于空病毒组,NOK 下调组细胞中 NOK 和 Vimentin 表达量降低,E-cadherin 表达量增高,分别为 0.09 ± 0.01 、 0.16 ± 0.02 、 4.83 ± 0.61 ,与对照组有统计学差异($P<0.05$); NOK 基因未干涉组细胞在雌激素刺激后 NOK 和 Vimentin 表

达量显著增高、E-cadherin 表达量显著降低,分别为 6.03 ± 0.92 、 5.77 ± 0.86 、 0.33 ± 0.04 ,与雌激素刺激前有统计学差异($P<0.05$);NOK 下调组细胞在雌激素刺激后,NOK 和 Vimentin 表达量降低、E-cadherin 表达量增高,分别为 0.11 ± 0.01 、 0.19 ± 0.03 、 4.92 ± 0.59 ,与对照组有统计学差异($P<0.05$),与 NOK 下调组雌激素刺激前相比无明显变化,组间无统计学差异($P>0.05$)(图 2)。

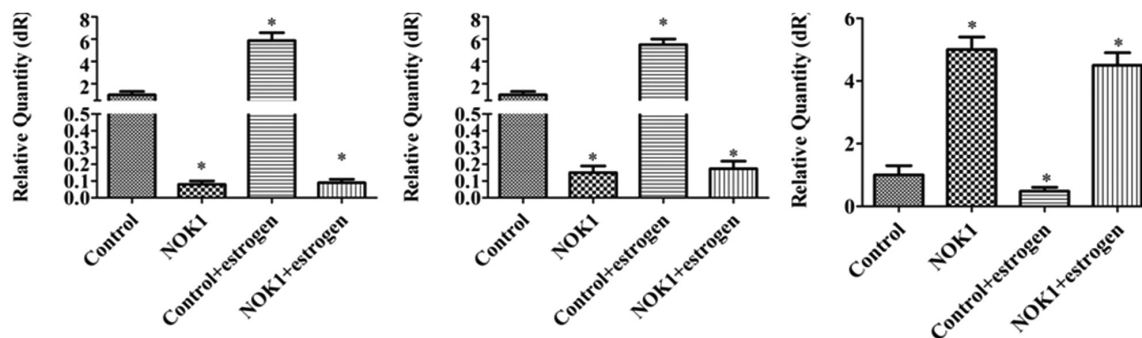


图2 各组细胞中 NOK 和 EMT 标志物 mRNA 表达量

Fig.2 MRNA expression of NOK and EMT markers in each group

*:与对照组相比, $P<0.05$ ($n=7$)

*: Compared with the control group, $P<0.05$ ($n=7$)

2.3 Western-blot 检测各组细胞中 NOK 和 EMT 标志物蛋白表达量

与 q-RT-PCR 实验结果的趋势相同, 相比于空病毒组, NOK 下调组细胞中 NOK 和 Vimentin 表达量降低、E-cadherin 表达量增高, NOK 基因未干涉组细胞在雌激素刺激后 NOK 和 Vimentin 表达量显著增高、E-cadherin 表达量显著降低, NOK 下调组细胞在雌激素刺激后, NOK 和 Vimentin 表达量降低、E-cadherin 表达量增高, 与 NOK 下调组雌激素刺激前相比无明显变化(图 3)。

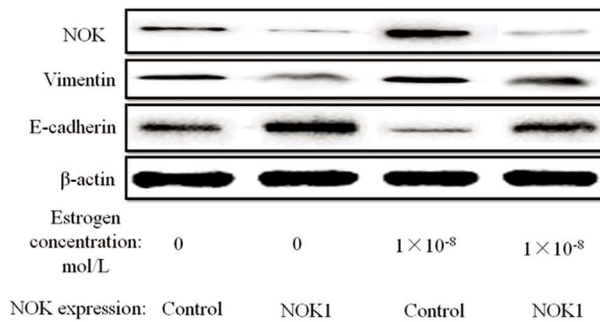


图 3 各组细胞中 NOK 和 EMT 标志物蛋白表达量

Fig.3 Protein expression of NOK and EMT markers in each group

* :与对照组相比, $P < 0.05$ ($n = 7$)

* : Compared with the control group, $P < 0.05$ ($n = 7$)

2.4 Transwell 迁移实验检测各组细胞迁移能力

空白对照组细胞迁移数为 38.12 ± 4.33 , NOK 下调组细胞迁移数为 9.02 ± 1.27 , 雌激素组细胞迁移数为 83.19 ± 12.01 , NOK 下调加雌激素组细胞迁移数为 19.25 ± 3.71 。NOK 下调组细胞迁移数显著低于空白对照组, 组间有统计学差异, 雌激素组细胞迁移数显著高于空白对照组, 组间有统计学差异, NOK 下调细胞加入雌激素后, 细胞迁移数显著低于空白对照组, 组间有统计学差异 ($P < 0.05$) (图 4)。

3 讨论

目前, 肺癌已经成为严重威胁人类健康的恶性肿瘤之一^[6], 其发病率和死亡率之高让公众健康受到巨大威胁, 但是在临床工作中, 除早期病人外, 对晚期肺癌患者缺乏有效的治疗手段^[7]。近几年, 女性患肺癌的比率逐年增高^[8], 发病率和死亡率仅次于乳腺癌^[9]。肺癌致死的主要因素在于肺癌转移对于重要器官的压迫和侵袭而带来的一系列并发症, 如肿瘤直接压迫或侵犯重要脏器导致器官功能衰竭, 进而导致死亡。因此, 防治肺癌转移是治疗晚期转移肺癌患者的突破口。EMT 是 1982 年由 Greenburg 等人首次在人晶状体上皮细胞中发现的机体内一种普遍的生理及病理现象, 即上皮细胞在特定的条件下向间充质细胞转化的过程^[10,11]。EMT 在胚胎发育、伤口愈合、器官纤维化和肿瘤转移等过程中均扮演着重要角色^[12,13]。EMT 过程不仅是

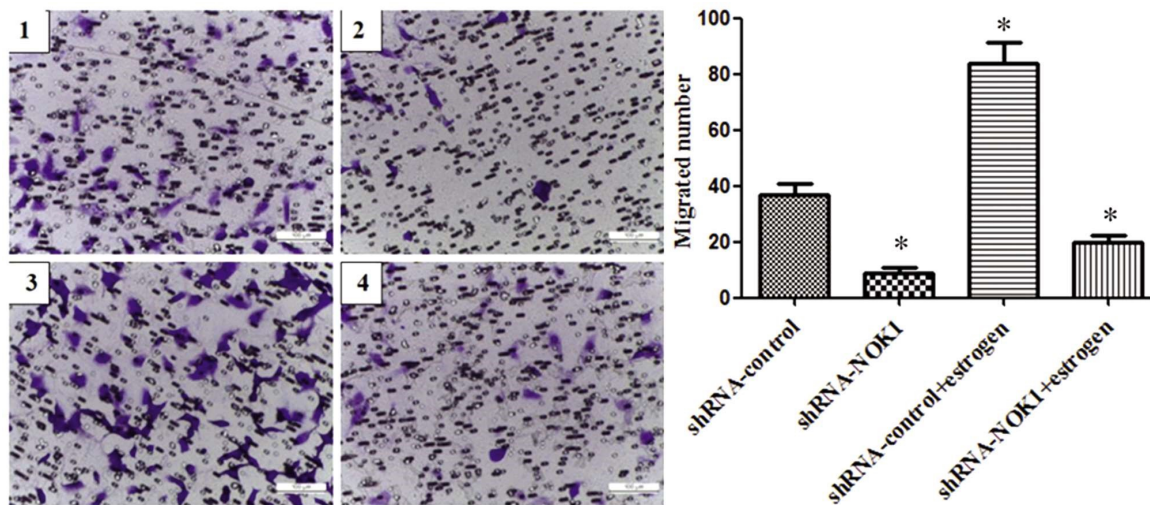


图 4 雌激素对 NOK 下调前后 A549 细胞迁移能力的影响

Fig. 4 The effect of estrogen on the migration of A549 cells before and after the down regulation of NOK

* :与对照组相比, $P < 0.05$ ($n = 7$)

* : Compared with the control group, $P < 0.05$ ($n = 7$)

简单的促进细胞的迁移能力, 还是一个复杂的重新编码的过程, 包括表观遗传学改变、细胞骨架的重新改造、蛋白表达的变化、细胞粘附能力的丢失、细胞极性消失、侵袭和转移能力增加、代谢和分化过程的改变等^[14,15]。该过程通过分化上皮癌细胞来逆转分化状态, 不仅表达了干细胞标记物, 而且还获得了干细胞样的功能^[16,17]。EMT 在肿瘤发生发展过程中主要的分子特征改变为: E-钙黏蛋白(E-cadherin)等上皮标志物表达和功能缺失^[18,19], 同时波形蛋白(Vimentin)等间质细胞标志物过量表达^[20,21]。本课题组前期实验也证实: 通过检测 E-cadherin 和 Vi-

mentin 的表达量可以很好的反应 A549 细胞系是否发生了 EMT 过程。EMT 作为肿瘤转移的起始环节, 一直是肿瘤转移研究的热点。在肝癌的研究中发现 NOK 可以通过调控 MEK/ERK、PI3K/AKT 通路促进 EMT 过程的发生。通过免疫组化实验发现非小细胞肺癌肿瘤中高表达 NOK 蛋白。本次实验通过慢病毒干涉 NOK 基因表达, 可以发现 A549 细胞系中 EMT 标记物表达量显著变化, 其中上皮标志物 E-cadherin 表达量增加, 间质标志物 Vimentin 表达量降低, 由此看出, 抑制 NOK 表达后, 降低的 A549 细胞系的 EMT 进程, 说明 NOK 基

因是 A549 细胞系发生 EMT 过程的关键基因。

雌激素作为人体重要的激素之一,在肿瘤发生、发展过程中所发挥的作用逐渐引起了人们的注意^[22,23]。以往的经验认为,雌激素作为人体必需的激素之一,与肿瘤的发生发展没有关系,然而最近的流行病学统计发现,在同样的烟草暴露下,女性罹患肺癌的比例高于男性,绝经前患肺癌的比例高于绝经后,且肺腺癌占主要部分^[24,25]。有研究表明,在非小细胞肺癌患者血清中检测到雌激素含量显著高于正常组织,且血清中雌激素含量与肿瘤的分期及患者预后具有相关性,血清中雌激素含量越高,肿瘤分期越晚,患者预后越差^[26,27]。本课题组前期实验证实^[9],雌激素可以促进肺腺癌 A549 细胞系中 NOK 基因的表达。同时,雌激素还可以促进 A549 细胞中 EMT 标志物的表达,并提高细胞的迁移能力。本次实验进一步证实,NOK 下调的细胞系在雌激素刺激前后,EMT 标志物表达量未见明显变化,而 NOK 正常表达的细胞系在雌激素刺激前后,EMT 标志物表达量有显著差异,同时 NOK 下调组在雌激素刺激前后细胞迁移数无明显变化,NOK 正常表达组在雌激素刺激前后,细胞迁移数有显著差异。通过以上结果可以看出,雌激素可以促进肺腺癌细胞系 EMT 过程,而下调 NOK 基因表达可以阻断这一过程。

综上所述,雌激素可以通过 NOK 调控肺腺癌 A549 细胞系的 EMT 过程,NOK 基因可以作为研究的肺腺癌 EMT 过程的新靶基因。这为后续的临床研究提供了理论基础,也为肺腺癌靶向治疗提供了新的方向。虽然证实了 NOK 在雌激素促进肺腺癌 A549 细胞系 EMT 过程中的作用,但是雌激素是通过哪个结构域与 NOK 结合并不清楚,后续实验将继续探索这一关键环节。

参考文献(References)

- [1] FE A, S A-A, F P-A, et al. Cost-effectiveness of lung cancer screening and treatment methods: a systematic review of systematic reviews [J]. BMC Health Serv Res, 2017, 17(1): 413
- [2] Y M, D Y, J H, et al. Epidemiology of Lung Cancer [J]. Surg Oncol Clin N Am, 2016, 25(3): 439-445
- [3] AM R, A D. Multiple primary lung cancer: A literature review [J]. Adv Clin Exp Med, 2018, 27(5): 725-730
- [4] Turley E A, Veiseh M, Radisky D C, et al. Mechanisms of disease: epithelial-mesenchymal transition-does cellular plasticity fuel neoplastic progression? [J]. Nat Clin Pract Oncol, 2008, 5(5): 280-290
- [5] 陈召 卢, 张志培, 孙盈. 雌激素对肺腺癌细胞系 A549 中 NOK 表达量的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(34): 6618-6621
- [6] Reinmuth N, Heigener D F, Reck M. Non small cell lung cancer news from immunotherapy [J]. Dtsch Med Wochenschr, 2015, 140(33): 329-333
- [7] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(6): 7-30
- [8] Tanoue L T, Tanner N T, Gould M K, et al. Lung cancer screening [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 191(1): 19-33
- [9] Chakraborty S, Ganti A K, Marr A, et al. Lung cancer in women: role of estrogens [J]. Expert Rev Respir Med, 2010, 4(4): 509-518
- [10] Greenburg G, Hay E D. Epithelia suspended in collagen gels can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cells [J]. The Journal of Cell Biology, 1982, 95(23): 333-339
- [11] A O-A, K K, LT G, et al. The role of mesenchymal-epithelial transition in endometrial function [J]. Hum Reprod Update, 2019, 25(1): 114-133
- [12] Li L, Li W. Epithelial-mesenchymal transition in human cancer comprehensive reprogramming of metabolism, epigenetic and differentiation [J]. Pharmacology & Therapeutics, 2015, 150(2015): 33-46
- [13] V M. Epithelial Mesenchymal Transition in Tumor Metastasis [J]. Annu Rev Pathol, 2018, 24(5): 395-412
- [14] Y Z, RA W. Epithelial-to-mesenchymal transition in cancer: complexity and opportunities [J]. Front Med, 2018, 12(4): 361-373
- [15] TT L, MH Y. Revisiting epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis: the connection between epithelial plasticity and stemness [J]. Mol Oncol, 2017, 11(7): 792-804
- [16] YM Y, WX Y. Epithelial-to-mesenchymal transition in the development of endometriosis [J]. Oncotarget, 2017, 8(25): 41679-41689
- [17] A D, RA W. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(2): 69-84
- [18] HC B, PWB D. Loss of E-Cadherin-Dependent Cell-Cell Adhesion and the Development and Progression of Cancer [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, 10(3): 553-559
- [19] V P, I K, Y S, et al. E-cadherin is required for metastasis in multiple models of breast cancer [J]. Nature, 2019, 573(7774): 439-444
- [20] S Y, FF C, GF Y. Vimentin immunohistochemical expression as a prognostic factor in gastric cancer: A meta-analysis [J]. Pathol Res Pract, 2018, 214(9): 1376-1380
- [21] AM R, LS H, AE K, et al. Vimentin Is Required for Lung Adenocarcinoma Metastasis via Heterotypic Tumor Cell-Cancer-Associated Fibroblast Interactions during Collective Invasion [J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(2): 420-432
- [22] Rodriguez AC B Z, Maurer KA, Gertz J. Estrogen Signaling in Endometrial Cancer: a Key Oncogenic Pathway with Several Open Questions [J]. Horm Cancer, 2019, 10(2): 51-63
- [23] T S, S M, R S, et al. Estrogen signaling: An emerging therapeutic target for breast cancer treatment [J]. Eur J Med Chem, 2019, 177(13): 116-143
- [24] Stanley K M, V D T. Women, Non-Smokers and Lung Cancer Screening Cost [J]. Wall Street Journal (Online), 2014, 6(7): 1-1
- [25] Miki Y, Abea K, Suzuki S, et al. Suppression of estrogen actions in human lung cancer [J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2011, 7(6): 1-7
- [26] Niikawa H, Suzuki T, Miki Y, et al. Intratumoral Estrogens and Estrogen Receptors in Human Non-Small Cell Lung Carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(14): 4417-4426
- [27] E K-C, A A, Z M-E. Crosstalk between Estrogen Signaling and Breast Cancer Metabolism [J]. Trends Endocrinol Metab, 2019, 30(1): 25-38