

靶向抑制 CPEB4 对鼻咽癌细胞的影响及放射增敏的机制研究

徐海燕 方玲 钱成根 褚俊峰 汪华

摘要 目的 本研究于2016年3~6月期间探讨靶向抑制CPEB4对鼻咽癌细胞生物学行为以及放射敏感度的影响。
方法 利用RNAi技术构建慢病毒载体靶向抑制CPEB4基因的干扰序列;采用CCK-8法绘制CNE-2-shCPEB4、5-8F-shCPEB4、CNE-2及5-8F的生长曲线(增殖能力);采用Transwell法检测CNE-2-shCPEB4、5-8F-shCPEB4迁移能力的改变;采用流式细胞术法检测CNE-2-shCPEB4、5-8F-shCPEB4凋亡率的改变;采用克隆形成实验检测CNE-2-shCPEB4、5-8F-shCPEB4、CNE-2及5-8F细胞的放射敏感度差异。采用Western blot法检测CNE-2-shCPEB4、5-8F-shCPEB4、CNE-2及5-8F细胞EMT相关蛋白表达改变。
结果 CNE-2-shCPEB4、5-8F-shCPEB4分别与CNE-2及5-8F对照,增殖速度以及迁移能力减弱;凋亡率无明显改变,放射敏感度增加。Western blot法检测了CPEB4靶向抑制后EMT表型相关蛋白表达改变,结果提示E-cadherin表达上调,slug、snail以及vimentin的表达下调相关,推测靶向抑制CPEB4后鼻咽癌放射敏感度增强可能与EMT相关蛋白及因子的表达改变相关。
结论 靶向抑制CPEB4蛋白表达后,鼻咽癌细胞系的增殖能力、体外迁移能力显著减弱,放射敏感度明显增强,其机制可能与CPEB4抑制EMT表型相关,E-cadherin表达上调,vimentin表达下调,E-cadherin表达上调可能与抑制E-cadherin表达的转录因子slug、snail表达下调相关。

关键词 鼻咽癌 CPEB4 生物学行为 放射敏感度 EMT

中图分类号 R76

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.11.041

Effect of Radiation Sensitization and Targeted Inhibition of CPEB4 on Nasopharyngeal Carcinoma Cell Line. Xu Haiyan, Fang Ling, Qian Chenggen, et al. Department of ENT, Jiangdu People's Hospital of Yangzhou, Jiangsu 225200, China

Abstract Objective To explore the emerging evidence that indicates a key role for the CPEB4 in the regulation of radiosensitivity and biological behavior of nasopharyngeal carcinoma cells. **Methods** The inhibition of CPEB4 gene was worked with the RNAi technique and lentiviral vector. Routine culture of nasopharyngeal carcinoma cells CNE-2 and 5-8F, logarithmic phase cells were selected for the experiment. CCK-8 assay was used for the detection the proliferative capacity of CNE-2-shCPEB4, 5-8F-shCPEB4, CNE-2 and 5-8F. Transwell assay was used for the detection the migration capacity of CNE-2-shCPEB4, 5-8F-shCPEB4, CNE-2 and 5-8F. The flow cytometry assay was used for the detection the apoptosis rate of CNE-2-shCPEB4, 5-8F-shCPEB4, CNE-2 and 5-8F. The expression EMT related proteins of CNE-2-shCPEB4, 5-8F-shCPEB4, CNE-2 and 5-8F were detected by Western blot.

Results The proliferation capacity and the migration capacity diminished in CNE-2-shCPEB4, 5-8F-shCPEB4. No obvious changes were detected in the apoptosis rate. The radiosensitivity of CNE-2-shCPEB4, 5-8F-shCPEB4 were increased. The possible mechanism about radiosensitization seemed to be related with the up regulated expression of EMT phenotype relative E-cadherin and the down regulated expression of slug, snail, vimentin in the situation of CPEB4 inhibition. **Conclusion** The proliferation capacity and the migration capacity diminished in CNE-2-shCPEB4, 5-8F-shCPEB4. No obvious changes were detected in the apoptosis rate. The radiosensitivity of CNE-2-shCPEB4, 5-8F-shCPEB4 were increased, which may be related to the up regulation of EMT phenotype relative E-cadherin and the down regulation of EMT phenotype relative vimentin, slug and snail.

Key words Nasopharyngeal carcinoma; CPEB4; Biological behaviour; Radiosensitivity; EMT

CPEB4在真核细胞及肿瘤细胞的生物学行为过程中的调节作用也被众多的研究报道,新近的多项研

究表明,CPEB4不仅在生殖细胞中表达,参与减数分裂的调控,在许多的成熟机体器官体细胞中表达,在调控基因表达中有至关重要的作用,如调控衰老与增殖的平衡,在肿瘤的发生、发展过程中也起着至关重要的作用^[1,2]。目前并无CPEB4与头颈肿瘤发生、发展相关以及放射敏感度相关的实验研究,也没有在蛋

作者单位:225200 扬州市江都人民医院耳鼻喉科(徐海燕、方玲、钱成根),放疗科(褚俊峰);225001 扬州,苏北人民医院临床实验中心(汪华)

白水平研究 CPEB4 调控的 mRNA 翻译改变在肿瘤中的作用的相关报道。本研究拟探讨靶向抑制 CPEB4 对鼻咽癌细胞生物学行为的影响,以及对鼻咽癌放射敏感度的影响及其可能的机制,以期其可能应用于临床而使临床获益。

材料与方法

1. 材料:人鼻咽癌细胞系:人鼻咽癌低分化细胞系(5-8F)、人鼻咽癌低分化细胞系(CNE-2)购自中南大学湘雅医院细胞中心,由本实验室保种,储存条件为液氮保存。人鼻咽癌 CPEB4 靶向抑制稳定转染细胞系(5-8F-shCPEB4)、人鼻咽癌 CPEB4 靶向抑制稳定转染细胞系(CNE-2-shCPEB4),有本实验室保种,储存条件为液氮保存。4 种细胞均为 RPMI 1640,10% FBE 培养基培养,培养条件为 37℃,5% CO₂。主要试剂:Tris-HCl Amresco, 0234; NP-40 Solarbio, N8030; SDS 国药集团化学试剂有限公司, 30166428; EDTA 美国 Amresco 公司; Sodium deoxycholate 生工生物工程(上海)股份有限公司, 0613; Glycerol 美国 Amresco 公司分装, 0854; PMSF 美国 Sigma 公司, P7626; Tris-base 美国 Angus 公司分装, 2201702; Bromphenol Blue 美国 Amresco 公司, 2800301; 丙烯酰胺美国 BBI 公司, AB1032; 其余试剂均为国产分析纯。

2. RNAi 慢病毒载体的构建:首先合成含干扰序列的单链 DNA oligo,然后退火配对产生双链,再通过其两端所含酶切位点直接连入酶切后的 RNAi 慢病毒载体上;将连接产物转入制备好的细菌感受态细胞,经 PCR 鉴定阳性重组子后,送测序验证,测序结果经比对确认正确的克隆即为构建成功的目的基因 RNAi 慢病毒载体。针对目的基因序列,参考 RNA 干扰序列设计原则,设计多个 RNA 干扰靶点序列,或使用一些 RNA 干扰实验中的公认序列,比如 RNAi 阴性对照(negative control, NC) Scramble 序列(5'-TTCTCCGAACGTGTCACGT-3');基因信息(基因名称:CPEB4;物种:人类)Easy-siRNA 设计:5'-GAT-GATAATGGATCGGCTA-3'。

3. CCK-8 法检测稳定转染细胞系增殖能力:在 96 孔板中接种细胞悬液(100 微升/孔),密度为 10⁴~10⁵/ml,将培养板在培养箱预培养过夜(在 37℃,5% CO₂ 的条件下),刺激细胞。到达时间点后换液,向每孔加入 100 μl 含 10 μl CCK-8 溶液的细胞培养基。用酶标仪测定(490,630)处的吸光度值(A)。

4. Transwell 法检测稳定转染细胞系迁移能力:取细胞悬液 100~200 μl 加入 Transwell 小室,24 孔板小室一般 200 μl。24 孔板下室一般加入 500 μl 含 FBS 或趋化因子的培养基,下层培养液和小室间常会有气泡产生,一旦产生气泡,下层培养液的趋化作用就减弱甚至消失了,一旦出现气泡,将小室提起,去除气泡,再将小室放进培养板。常规培养 24h。通过 0.1% 结晶紫染色,可在镜下直接计数细胞。使用正置显微镜进行观察和拍照。取 3~5 个视野计数细胞个数,选取固定的位置,并选择尽可能多的视野。

5. 流式细胞术检测稳定转染细胞系凋亡:用预冷的 PBS 洗涤细胞两次,之后用 1×的结合缓冲液重悬细胞,调节细胞浓度到 1×10⁶ 个/毫升;取 100 μl 调节好浓度的细胞悬液加入 5 ml 流式管;加入 Annexin V 标记蛋白和相应的核酸染料;均匀混合,室温避光反应 15 min;向流式管中加入 400 μl 的结合缓冲液,重悬后及时上机检测。

6. 克隆形成实验检测稳定转染细胞系放射敏感度:将调整后的细胞悬液加入 6 孔板,每组设置 0 Gy、1 Gy、2 Gy、4 Gy、6 Gy、8 Gy、10 Gy 7 个剂量,每板每空接种的细胞数目分别为 100、200、400、600、800、1000、2000 个。每孔均以培养基加至终体积为 2 ml。细胞在标准条件下培养 2 周,观察克隆形成情况。加入甲醇 1 毫升/孔,固定 15 min 后,弃去固定液,以流水缓慢冲洗干净,每孔加入 1 ml 的姬姆萨使用液染色 30 min,以随机所带软件计数克隆数目,扫描并保存图像。独立重复 3 次实验。

7. Western blot 法检测 EMT 相关蛋白表达水平:准备 1.5 ml 离心管,每管加入考马斯亮蓝溶液 1 ml,考马斯亮蓝溶液应于 4℃ 储存的。室温放置 30 min 后即可用于测蛋白。取一管加 0.15 mol/L NaCl 溶液 100 μl,混匀后放置 2 min 可做为空白样品,将空白样品倒入比色杯中在做好标准曲线的程序下按 blank 测空白样品。倒掉空白样品,用无水乙醇清洗比色杯 2 次(每次 0.5 ml),再用无菌水清洗一次。再取一管考马斯亮蓝加 95 μl 0.15 mol/L NaCl 溶液和 5 μl 待测蛋白样品,混匀后静置 2 min,倒入比色杯(需扣干)按“sample”键测样品。测得的结果是 5 μl 样品含的蛋白量。采用 Western blot 法严格按照试剂盒说明进行检测。将胶片进行扫描并拍照,用凝胶图象处理系统分析目标带的分子质量和净光密度值。

8. 统计学方法:应用 SPSS 20.0 统计学软件进行统计分析处理。实验数据均用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)

表示。两组间的差异性比较用 *Student's t* 检验, 多组间的差异性比较用单因素方差分析(ANOVA), 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 靶向抑制 CPEB4 细胞增殖: 如表 1 所示, 转染

了靶向抑制 CPEB4 表达的慢病毒载体的 5 - 8F - shCPEB4、CNE - 2 - shCPEB4 两种细胞分别较常规培养对照组细胞增殖能力减弱, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 靶向抑制 CPEB4 细胞增殖改变

组别	0h	24h	48h	72h
5 - 8F 组	0.13 ± 0.01	0.24 ± 0.02	0.59 ± 0.05	1.42 ± 0.13
5 - 8F - shCPEB4 组	0.12 ± 0.01 *	0.23 ± 0.01 *	0.41 ± 0.04 *	0.76 ± 0.07 *
CNE - 2 组	0.13 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.72 ± 0.06	0.82 ± 0.08
CNE - 2 - shCPEB4 组	0.14 ± 0.01 #	0.24 ± 0.02 #	0.42 ± 0.03 #	1.71 ± 0.16 #

与 5 - 8F 组比较, * $P < 0.05$; 与 CNE - 2 组比较, # $P < 0.05$

2. 靶向抑制 CPEB4 细胞迁移能力: 如表 2、图 1 所示, 转染了靶向抑制 CPEB4 表达的慢病毒载体的 5 - 8F - shCPEB4、CNE - 2 - shCPEB4 两种细胞分别较常规培养对照组细胞迁移能力减弱 ($P < 0.05$)。

表 2 靶向抑制 CPEB4 细胞迁移能力改变

组别	迁移能力
5 - 8F 组	53.62 ± 5.16
5 - 8F - shCPEB4 组	21.08 ± 1.88 *
CNE - 2 组	69.37 ± 6.82
CNE - 2 - shCPEB4 组	26.34 ± 2.54 #

与 5 - 8F 组比较, * $P < 0.05$; 与 CNE - 2 组比较, # $P < 0.05$

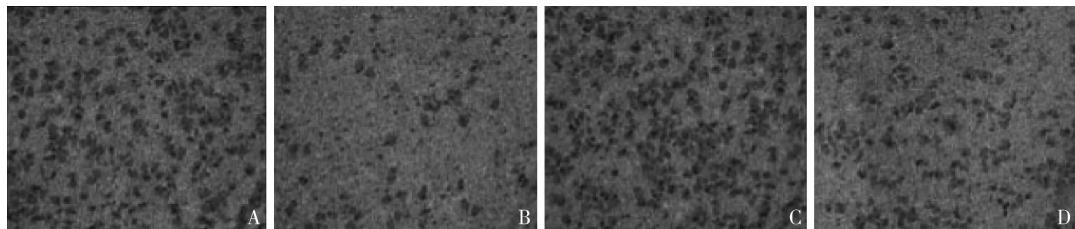


图 1 靶向抑制 CPEB4 细胞迁移能力改变(结晶紫, $\times 50$)

A. 5 - 8F 组; B. 5 - 8F - shCPEB4 组; C. CNE - 2 组; D. CNE - 2 - shCPEB4 组

3. 靶向抑制 CPEB4 细胞凋亡: 如图 2 所示, 转染了靶向抑制 CPEB4 表达的慢病毒载体的 5 - 8F -

shCPEB4、CNE - 2 - shCPEB4 两种细胞分别较常规培养对照组细胞凋亡率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

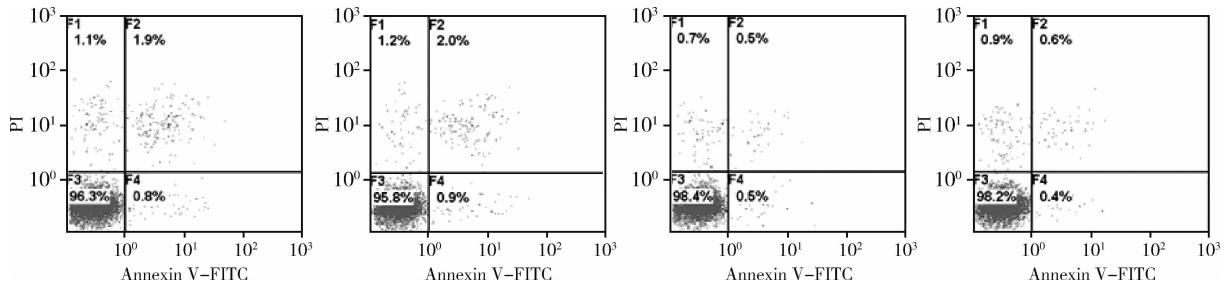


图 2 流式细胞术检测结果

A. 5 - 8F 组; B. 5 - 8F - shCPEB4 组; C. CNE - 2 组; D. CNE - 2 - shCPEB4 组

4. 靶向抑制 CPEB4 细胞放射敏感度: 如表 3 所示, 转染了靶向抑制 CPEB4 表达的慢病毒载体的 5 - 8F - shCPEB4、CNE - 2 - shCPEB4 两种细胞分别较常规培养对照组细胞放射敏感度增加 ($P < 0.05$)。

5. EMT 相关蛋白的表达: 如图 3 所示, 靶向抑制 CPEB4 组细胞 E - cadherin 的表达上调, slug、snail 以及 vimentin 表达下调。

表 3 靶向抑制 CPEB4 细胞放射敏感度的改变 ($\bar{x} \pm s$)

组别	0Gy	2Gy	4Gy	6Gy	8Gy	10Gy
5-8F 组	1.00 ± 0.00	0.86 ± 0.08	0.70 ± 0.06	0.28 ± 0.02	0.12 ± 0.01	0.04 ± 0.003
5-8F-shCPEB4 组	1.00 ± 0.00 [*]	0.82 ± 0.07 [*]	0.30 ± 0.02 [*]	0.08 ± 0.006 [*]	0.06 ± 0.005 [*]	0.004 ± 0.0004 [*]
CNE-2 组	1.00 ± 0.00	0.88 ± 0.07	0.54 ± 0.04	0.23 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.09 ± 0.008
CNE-2-shCPEB4 组	1.00 ± 0.00 [#]	0.58 ± 0.04 [#]	0.19 ± 0.02 [#]	0.05 ± 0.004 [#]	0.002 ± 0.0002 [#]	0.001 ± 0.0001 [#]

与 5-8F 组比较, *P < 0.05; 与 CNE-2 组比较, #P < 0.05

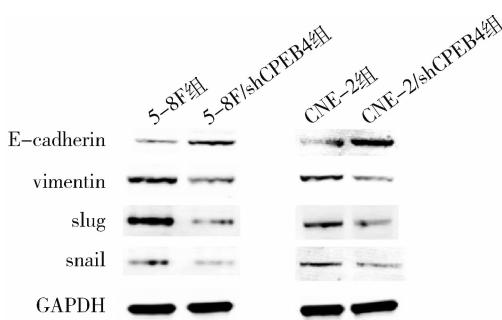


图 3 Western blot 法检测 EMT 相关蛋白及因子的表达改变

讨 论

鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 对放射治疗的敏感度较高, 临床分期 I 期、II A 期的 NPC 患者经放射治疗后, 5 年生存率可达到 90% 以及 84%。晚期鼻咽癌放疗的效果较差, 主要原因是远处转移以及复发, 复发率高达 82%, 随着放射治疗技术的进展, 肿瘤控制率得到提高, 放疗不良反应也相应降低, 鼻咽癌放疗的疗效有所改善^[3]。但放射治疗仍可对全身及局部毗邻器官组织造成临时或永久性的损害, 导致相应的并发症。口干、耳聋、张口困难及鼻塞等, 是鼻咽癌患者接受放疗后最常见的并发症。鼻咽癌邻近的危及器官相应地退缩、位移或变形。另外鼻咽癌放疗后患者耳聋及分泌性中耳炎发生率很高, 严重影响患者的生存质量^[4]。此外, 由于周围正常组织器官的剂量限制, 部分患者放疗后出现复发, 而导致治疗失败, 因此, 解决临床面临的提高放射治疗剂量的同时降低周围毗邻器官组织接受的照射剂量, 鼻咽癌的个体化治疗以及放射增敏相关的研究是鼻咽癌放射治疗面临的关键问题。

有研究发现, 真核细胞有丝分裂和早期胚胎分裂时基因组的转录水平并没有发生非常显著地改变, 这一过程主要是依赖细胞内休眠的 mRNA 分子的翻译来实现调控, CPEB4 在这一过程中发挥了非常重要的作用, CPEB4 可以延长细胞分裂必需蛋白的 mRNA 分子的多聚 A 尾, 激活其翻译过程, 确保有丝分裂过

程的顺利进行^[5,6]。Novoa 等^[6]的研究发现, CPEB4 在胰腺导管腺癌及脑胶质细胞瘤中的表达显著增高, 促进肿瘤增殖、血管生成及肿瘤侵袭浸润, 在肿瘤中 CPEB4 与数百个 mRNA 分子密切相关, 并可以调控其翻译, 其中大多数 mRNA 分子与肿瘤的发生、发展及侵袭转移密切相关, 但该研究仅在 mRNA 水平研究了 CPEB4 可能调控的 mRNA 分子, 并选择了其中具有代表性的几个蛋白进行研究, 如 tPA、vWF 和 α -SMA 等。CPEB4 的表达改变已被较多研究报道与肿瘤发生及进展相关, 包括肿瘤生长、肿瘤恶性程度及肿瘤血管形成等, 均被提示与 CPEB4 过度表达过异常表达相关^[7~10]。本研究发现, 靶向抑制 CPEB4 蛋白表达后, 鼻咽癌细胞系的增殖能力、体外迁移能力显著减弱, 凋亡率无明显改变, 放射敏感度明显增强。这与相关研究结果相符。

上皮细胞具有典型顶-底极性, 且细胞间存在紧密连接及黏附连接, 其主要功能是保护、支持以及分泌, 上皮细胞在一些因素的作用下极性丢失, 失去紧密连接及黏附连接, 具有了可游走的间质细胞特性, 被定义为上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)。EMT 在哺乳动物胚胎发育的过程中是必需的, 一些胚胎发育的生理过程如原始中胚层形成、神经脊发育成体节等组织均需要 EMT 的参与, EMT 分为 3 型, 其中 1 型 EMT 与原始上皮细胞间质化原肠形成及原始神经上皮细胞形成神经嵴细胞相关; 内胚层及中胚层由 EMT 形成的细胞重新具备上皮细胞的特性, 称为间质-上皮转化 (mesenchymal-epithelial transition, MET); 2 型 EMT 即二次上皮细胞化的细胞形成组织中的纤维组织母细胞, 与持续炎性刺激相关; 3 型 EMT 即上皮细胞来源的癌组织原发灶细胞通过 MET 重新具备游走性, 经过血流转移至远处; 约 90% 恶性肿瘤中上皮细胞性癌侵袭转移, 属 3 型 EMT, 上皮细胞获得迁移能力, 导致侵袭转移的发生。

多项研究表明, 上皮细胞基膜的破坏是头颈鳞状细胞癌 (head and neck squamous cell carcinoma,

HNSCC)侵袭及转移的关键步骤,EMT 在肿瘤侵袭中的作用受到越来越多研究者的关注。Luo 等^[11]的研究通过免疫组化以及免疫荧光的方法检测了 122 例鼻咽癌患者中的表达情况。结果提示细胞膜、细胞质 E - cadherin 的表达均与淋巴结转移($P < 0.01$)以及临床分期相关($P < 0.01$), vimentin 与细胞质 E - cadherin 同时高表达的患者生存期短于其他患者,且这两种蛋白同时高表达与淋巴结转移以及临床分期呈正相关(P 均 = 0.000),提示与鼻咽癌生物学行为密切相关,细胞核 vimentin 以及细胞质 E - cadherin 的表达有独立预后价值,可能作为新的鼻咽癌治疗的靶点。已有报道的 EMT 与 HNSCC 相关的因素包括细胞表面蛋白(E - cadherin、N - cadherin 以及 integrins)、细胞骨架蛋白(α -smooth muscle actin、vimentin 以及 β -catenin)、胞外基质蛋白(collagens、fibronectin 以及 laminin)、转录因子(SNAIL1、SNAIL2、TWIST 以及 LEF - 1)^[12]。E - cadherin 和 vimentin 是 EMT 过程中的两个重要标志物,E - cadherin 是上皮细胞的标志物,其表达量高低反映了上皮细胞表型的,而 vimentin 是间质细胞的标志物之一,在肿瘤细胞中表达多少反映了间质细胞表型^[13]。

研究表明,放射线可诱导 EMT 相关 E - cadherin 的表达下调,细胞侵袭及迁移能力增强,诱导多种肿瘤细胞的放射抗拒,此外,乏氧也可诱导上皮细胞标志物 E - cadherin 表达降低,间质细胞标志物 vimentin 表达增高,因此,具有上皮间质转位表型可能是鼻咽癌患者远期生存率较差的原因,本实验发现稳定转染靶向抑制 CPEB4 鼻咽癌细胞株 5 - 8F - shCPEB4 以及 CNE - 2 - shCPEB4 中 E - cadherin 表达上调,而 vimentin 表达下调,提示 CPEB4 靶向抑制诱导的间质细胞转化相关 E - cadherin 表达上调以及 vimentin 表达下调可能与放射增敏相关^[14]。Slug、snail 是可以抑制 E - cadherin 表达的转录因子,其可促进 EMT 的发生,在肿瘤的进展中发挥了重要的作用。已有研究报道通过抑制 slug、snail 等的表达可以上调 E - cadherin 的表达,从而抑制肿瘤细胞的 EMT 发生,在本实验中,靶向抑制 CPEB4 表达后,可检测到 slug、snail 的表达均有所降低,由此可见,抑制 CPEB4 表达后 EMT 相关的 E - cadherin 表达上调可能由于 slug、snail 表达下调引起,提示 slug、snail 可能也参与了 CPEB4 对鼻咽癌细胞放射增敏的调控过程^[15]。

综上所述,本研究发现,靶向抑制 CPEB4 蛋白表

达后,鼻咽癌细胞系的增殖能力、体外迁移能力显著减弱,凋亡率无明显改变,放射敏感度明显增强。其机制可能与 CPEB4 抑制 EMT 表型相关,E - cadherin 表达上调,vimentin 表达下调,E - cadherin 表达上调可能与抑制 E - cadherin 表达的转录因子 slug、snail 表达下调相关。

参考文献

- 1 万仁辉,温宜清,吕勇,等. CPEB4 在结直肠癌组织中表达及其与预后的关系[J]. 消化肿瘤杂志:电子版,2016,8(3):171-175
- 2 刘志军,周海存,陈小兵,等. 人脑胶质瘤组织中 CPEB4 的表达及与细胞迁移和侵袭的关系[J]. 郑州大学学报:医学版,2016,51(5):622-626
- 3 毕建平,杨冬琴,韩光,等. 鼻咽癌足量放疗后局部残存的放射治疗选择[J]. 华中科技大学学报:医学版,2015,(5):612-615
- 4 冯韶燕,樊韵平,吕明慧,等. 鼻咽癌患者放化疗后听力下降的远期临床分析[J]. 中国慢性病预防与控制,2012,20(5):543-546
- 5 Rouhana L, Wickens M. Autoregulation of GLD - 2 cytoplasmic poly(A) polymerase[J]. RNA: New York, N. Y., 2007, 13(2):188-199
- 6 Novoa I, Gallego J, Ferreira PG, et al. Mitotic cell - cycle progression is regulated by CPEB1 and CPEB4 - dependent translational control[J]. Nature Cell Biology, 2010, 12(5):447-456
- 7 张立艳,董旭仕,陈雪,等. miR - 203 负性调控 CPEB4 基因对人脑胶质瘤 U87 细胞增殖的影响[J]. 中国生物制品学杂志,2016,29(8):819-822,828
- 8 Ortiz - Zapater E. Key contribution of CPEB4 - mediated translational control to cancer progression[J]. Nat Med, 2012, 18(1): 83-90
- 9 梁博,王新军,周少龙,等. 人脑胶质瘤组织中 CPEB4 和 Bcl - xl 蛋白的表达及其临床意义[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2013,20(3):352-355
- 10 Ortiz - Zapater E, Pineda D, Martinez - Bosch N, et al. Key contribution of CPEB4 - mediated translational control to cancer progression [J]. Nature Medicine, 2011, 23(11): 545-553
- 11 Luo W, Fang W, Li S, Yao K. Aberrant expression of nuclear vimentin and related epithelial - mesenchymal transition markers in nasopharyngeal carcinoma[J]. Int J Cancer, 2012, 131(8): 1863-1873
- 12 Scanlon CS, Van Tubergen EA, Inglehart RC, et al. Biomarkers of epithelial - mesenchymal transition in squamous cell carcinoma[J]. J Dent Res, 2013, 92(2): 114-121
- 13 姜晓玲,乔峰,徐维,等. 上皮 - 间质转化及相关信号转导通路的研究进展[J]. 临床与实验病理学杂志,2014,30(5):547-550
- 14 罗爱华,高帽,谢乐,等. 鼻咽癌组织中上皮 - 间叶转换的检测及其转移的相关性[J]. 实用癌症杂志,2012,27(5):449-452,458
- 15 杨立民,耿月华,黄仲庆,等. E - cadherin、Vimentin 和 Snail 在初发、复发鼻咽癌组织中表达的差异[J]. 山西医科大学学报,2016,47(12):1076-1079

(收稿日期:2016-12-13)

(修回日期:2016-12-21)