

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.02.005

· 基础研究 ·

C-藻蓝蛋白抑制 TGF- β 1 诱导的宫颈癌 Caski 细胞上皮-间充质转化

姬欢欢,董晓雷,朱峰,刘国祥,韩晶晶,杨方浩,杨一凡,李冰(青岛大学 医学部 基础医学院 遗传学与细胞生物学系,山东 青岛 266021)

[摘要] **目的:**探究 C-藻蓝蛋白(C-phycoerythrin, C-PC)对转化生长因子 β 1(transforming growth factor beta 1, TGF- β 1)诱导的宫颈癌 Caski 细胞上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的影响。**方法:**根据处理方法不同将 Caski 细胞分为 3 组即 10 ng/ml TGF- β 1 处理组、10 ng/ml TGF- β 1+300 μ g/ml C-PC 共处理组和对照组(未加药处理),处理 24 h 后观察细胞的形态变化;采用划痕实验及 Transwell 实验分别检测 TGF- β 1 和 C-PC 对 Caski 细胞迁移和侵袭的影响;Western blotting 方法检测 C-PC 对 TGF- β 1 诱导的 Caski 细胞上皮表型标志蛋白 E-cadherin、间质表型标志蛋白 N-cadherin 表达水平的影响;qPCR 法检测间质表型相关锌指转录因子 Snail、Zeb1、Twist mRNA 的表达。**结果:**TGF- β 1 处理组 Caski 细胞失去原有的上皮表型的特征,而 TGF- β 1+C-PC 共处理组细胞保持正常的上皮表型的特征;TGF- β 1 处理组 Caski 细胞的迁移率[(60.0 \pm 1.4)% vs (33.5 \pm 2.2)%、(40.0 \pm 2.8)%],均 $P<0.05$]和侵袭穿膜细胞数[(108.2 \pm 6.2) vs (25.2 \pm 3.1)、(39.8 \pm 5.4)个],均 $P<0.01$]较共处理组和对照组显著升高;与对照组相比,TGF- β 1 处理组 Caski 细胞中 E-cadherin 表达显著降低($P<0.05$),Twist、Snail、Zeb1 的 mRNA 表达水平显著升高($P<0.01$),而加入 C-PC 共处理可逆转上述改变($P<0.05$ 或 $P<0.01$),同时显著降低 N-cadherin 的蛋白表达水平(均 $P<0.05$)。**结论:**C-PC 处理能够抑制 TGF- β 1 诱导的 Caski 细胞侵袭转移能力进而影响 EMT 过程,其机制可能与 C-PC 处理降低 Twist、Snail、Zeb1 的 mRNA 表达有关。

[关键词] C-藻蓝蛋白;TGF- β 1;宫颈癌;迁移;侵袭;Caski 细胞

[中图分类号] R737.33;R730.54;R730.23 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)02-0129-06

C-phycoerythrin inhibits epithelial-mesenchymal transformation of TGF- β 1-induced cervical cancer Caski cells

Ji Huanhuan, DONG Xiaolei, ZHU Feng, LIU Guoxiang, HAN Jingjing, YANG Fanghao, YANG Yifan, LI Bing (Department of Biology, Faculty of Medicine, Qingdao University, Qingdao 266021, Shandong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of C-phycoerythrin (C-PC) on the epithelial-mesenchymal transition (EMT) of cervical cancer Caski cells induced by transforming growth factor beta1 (TGF- β 1). **Methods:** According to different treatment methods, Caski cells were divided into three groups: 10 ng/ml TGF- β 1 treatment group, 10 ng/ml TGF- β 1+300 μ g/ml C-PC co-treatment group and control group (untreated). After 24 h of treatment, the morphological changes of Caski cells were observed, and the effects of TGF- β 1 and C-PC on the migration and invasion of Caski cells were detected by Scratch test and Transwell test, respectively. Western blotting was used to detect the effect of C-PC on the expression of epithelial phenotypic marker protein E-cadherin and stromal phenotypic marker protein N-cadherin in TGF- β 1-induced Caski cells, and qPCR was used to detect the mRNA expressions of EMT related factors Snail, Zeb1 and Twist. **Results:** Caski cells in the TGF- β 1 treatment group lost the characteristics of the original epithelial phenotype, while the cells in the TGF- β 1+C-PC co-treatment group maintained the characteristics of normal epithelial phenotype; the migration rate ([60.0 \pm 1.4)% vs [33.5 \pm 2.2]%, [40.0 \pm 2.8]%, both $P<0.05$) and the number of invasive transmembrane cells ([108.2 \pm 6.2) vs [25.2 \pm 3.1], [39.8 \pm 5.4], both $P<0.01$) of Caski cells in the TGF- β 1 treatment group were significantly higher than those in the co-treatment group and the control group. Compared with the control group, the expression of E-cadherin in Caski cells treated with TGF- β 1 decreased sig-

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81871231,81471546,81001346);山东省高等学校青年创新科技计划资助(No.2019JKJ016);青岛市民生科技计划项目资助(No.18-6-1-91-nsh)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81871231, 81471546, 81001346), the Youth Innovation and Science and Technology Plan of Colleges and Universities in Shandong Province (No.2019JKJ016), and the Qingdao MinSheng Science and Technology Program (No.18-6-1-91-nsh)

[作者简介] 姬欢欢(1994-),女,硕士生,主要从事抗肿瘤相关研究,E-mail: m18854801398_1@163.com

[通信作者] 李冰(LI Bing,corresponding author),博士生导师,主要从事海洋药物抗肿瘤机制研究,E-mail: libing_516619@163.com

nificantly ($P < 0.05$), while the mRNA expressions of Twist, Snail and Zeb1 increased significantly (all $P < 0.05$); However, co-treatment with C-PC reversed above changes ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and significantly decreased the protein expression level of N-cadherin ($P < 0.05$). **Conclusion:** C-PC treatment can inhibit the invasion and metastasis ability of Caski cells induced by TGF- β 1 and further affects the EMT process. The mechanism may be related to the decrease of mRNA expressions of Twist, Snail and Zeb1 by C-PC treatment.

[Key words] C-phycocyanin (C-PC); TGF- β 1; cervical cancer; migration; invasion; Caski cell

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(2): 129-134. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.02.005]

宫颈癌是发展中国家最常见的女性生殖器官恶性肿瘤^[1]。随着宫颈癌筛查的广泛开展,子宫颈癌和癌前病变的早期诊断和治疗得到了改善,但是对于晚期或转移性宫颈癌,其效果并不令人满意,浸润和转移仍然是宫颈癌患者死亡的主要原因^[2]。研究宫颈癌的侵袭和转移的潜在机制对于宫颈癌的治疗和预后尤其重要。转化生长因子 β 1 (transforming growth factor beta1, TGF- β 1)是体内诱导上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的重要因素^[3-4],能够促进肿瘤的浸润和转移。C-藻蓝蛋白(C-phycocyanin, C-PC)是从螺旋藻中分离纯化的天然海产品,具有水溶性和自发红色荧光的特点^[5],越来越多的研究表明,C-PC在体内和体外对各种类型的癌细胞(例如宫颈癌^[6]、胰腺癌^[7]、结肠癌^[8]和乳腺癌^[9, 9]等)发挥抑制作用,但C-PC对宫颈癌细胞侵袭、转移的影响尚不清楚。本研究,观察C-PC对宫颈癌Caski细胞迁移和侵袭的抑制能力,探究C-PC对TGF- β 1诱导宫颈癌细胞EMT的作用,以期为晚期宫颈癌治疗及预后提供新思路。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人宫颈癌Caski细胞株由青岛大学附属医院提供。C-PC购自中国台州宾美生物技术有限公司,抗人E-cadherin、N-cadherin一抗及HRP标记的二抗购自美国Cell Signaling Technology公司,重组人TGF- β 1购自美国Peprotech有限公司,DMEM培养液购自Hyclone公司,胎牛血清(FBS)购自美国ExCellBio公司,Transwell小室及Matrigel基质胶购自BD Biosciences公司,PCR引物购自深圳华大基因,Hieff™qPCR SYBR® Green MasterMix和逆转录试剂盒购自上海翊圣生物科技有限公司,ECL化学发光试剂盒购自苏州新赛美生物科技有限公司,荧光显微镜购自上海光密仪器有限公司。

1.2 细胞培养及实验分组

Caski细胞使用DMEM培养液进行常规培养。在超净工作台配制细胞培养液,DMEM:胎牛血清:双抗=89:10:1,FBS在4℃融化,间隔1h摇晃。

实验分为3组,每组设置3个复孔。对照组:不加药物处理的Caski细胞,用等量的DMEM培养液替

代药物;TGF- β 1处理组:用10 ng/ml TGF- β 1处理;TGF- β 1联合C-PC共处理组(TGF- β 1+C-PC共处理组):用10 ng/ml TGF- β 1和300 μ g/mL C-PC共同处理。

1.3 观察TGF- β 1与C-PC对Caski细胞形态的影响

向6孔板中接种1 ml Caski细胞悬液,细胞 5×10^4 个/孔,置于细胞培养箱中孵育过夜,换无血清培养基饥饿处理12 h后,按1.2所述进行分组、加药,继续培养细胞24 h,倒置荧光显微镜观察,拍照。

1.4 划痕实验检测TGF- β 1与C-PC对Caski细胞迁移能力的影响

将Caski细胞(每孔 4×10^5 个细胞)铺入6孔板,培养至80%~90%汇合,采用无血清培养基饥饿处理12 h。借助直尺,使用1 ml微量移液器吸头在6孔板中划线。将细胞按1.2所述进行分组并加药处理。并在0、24和48 h使通过相差显微镜观察拍照并计算迁移率。迁移率=(0 h时划痕宽度 - 测量时划痕宽度)/0 h时划痕宽度 $\times 100\%$ 。

1.5 Transwell实验检测TGF- β 1与C-PC对Caski细胞侵袭能力的影响

使用具有8.0 μ m孔径脂膜的Transwell进行侵袭测定。将Matrigel于4℃融化后置于冰上,在无菌条件下用无血清培养基按1:8稀释,取50 μ l加入小室覆盖聚碳酸酯膜上,将小室置于24孔板中放置于37℃培养箱中4 h使Matrigel膜固化,将无血清培养基饥饿处理12 h的Caski细胞悬液(2×10^4 个细胞/200 μ l)接种在上室,下室加入600 μ l含20% FBS的培养基。将细胞按1.2所述分组加药处理,培养24 h后,弃上清,PBS洗2次,100%甲醇固定30 min,棉签轻轻擦去上室表面细胞,用0.1%结晶紫溶液染色15 min,使用荧光显微镜拍照,随机选5个视野进行细胞计数,并计算每孔的平均细胞数。

1.6 WB方法检测TGF- β 1与C-PC对Caski细胞中E-cadherin、N-cadherin表达的影响

处于对数生长期的Caski细胞无血清饥饿处理12 h后,按1.2所述进行分组加药处理,培养48 h后收集各组细胞,用PBS冲洗,加入含有PMSF和磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液,冰上裂解细胞30 min,4℃条件下以12 000 \times g离心15 min后,取上清液,用BCA试剂盒测定蛋白浓度。蛋白样品按加入SDS-PAGE蛋

白上样缓冲液后 100 °C 加热 10 min 变性。每孔取 30 μ g 样本蛋白上样, 浓缩胶层 80 V 恒压电泳, 待样品到达分离胶层时调至 140 V 恒压电泳, 溴酚蓝作为指示剂到达分离胶底部时, 停止电泳, 关闭电源。300 mA 恒流转膜 40 min 电转至 PDVF 膜上, 5% 脱脂奶粉室温摇床上封闭 2 h。孵育一抗, 4 °C 孵育过夜 (>12 h), 用 TBST 洗涤 3 次后, 加入 HRP 标记的山羊抗兔二抗室温孵育 1 h, 抗体稀释比详见表 1。TBST 洗涤 3 次。暗室中采用 ECL 试剂盒和凝胶成像系统发光成像, Image J 软件分析条带灰度值, 以目的蛋白条带灰度值与 β -actin 条带灰度值的比值表示蛋白相对表达量。

表 1 抗体稀释比

Tab.1 Antibody dilution ratio

Antibody	Dilution ratio
Anti E-cadherin	1:1 000
Anti N-cadherin	1:1 000
Anti β -actin	1:5 000
Goat Anti Rabbit-IgG/HRP	1:2 000

1.7 qPCR 法检测间质表型相关因子 Snail、Zeb1、Twist mRNA 的表达

将细胞按 1.2 所述分组、加药处理 48 h 后 PBS 洗 2 次, 收集细胞, 采用 TRIzol 法提取总 RNA, 紫外分光光度计测定 RNA 浓度并鉴定纯度。使用逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录合成 cDNA。反应条件为: 25 °C、5 min, 42 °C、30 min, 85 °C、5 min, 4 °C 保存 cDNA。应用荧光定量 PCR 仪进行 qPCR 扩增及检测。qPCR 反应条件: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C、5 s, 60 °C、30 s, 72 °C、20 s, 65 °C、5 s, 共进行 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 Twist、Snail、Zeb1 的 mRNA 相对表达水平。

所用引物序列见表 2。

表 2 qPCR 所用引物序列

Tab.2 Primer sequences for qPCR

Gene	Primer sequence
Twist	F:5'-ATCGATGTGCTGTAGCTGTAGC-3'
	R:5'-GCTAGTCGTGTAGCTGTCTATC-3'
Snail	F:5'-CGTAGCTGATCGTGATGCTGAG-3'
	R:5'-TAGCTGTAGTGCTGTAGCTGTA-3'
Zeb1	F:5'-CGTAGCTGTAGCTGATCGTGAT-3'
	R:5'-CGTAGCTGATCGTAGCTGCGAC-3'
GAPDH	F:5'-ACCCAGAAGACTGTGGATGG-3'
	R:5'-CAGTGAGCTTCCCGTTCAG-3'

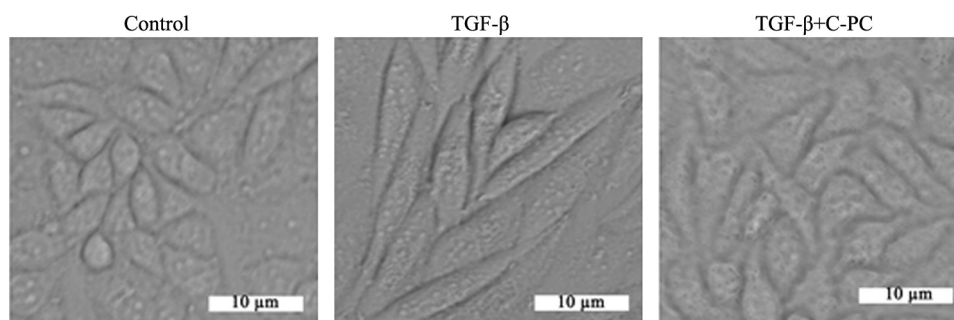
1.8 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件分析数据, 使用 Graph-PadPrism 5、ImageJ 软件处理图像, 所有实验独立重复 3 次, 呈正态分布的计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 C-PC 抑制 TGF- β 1 诱导的 Caski 细胞间质化形态变化

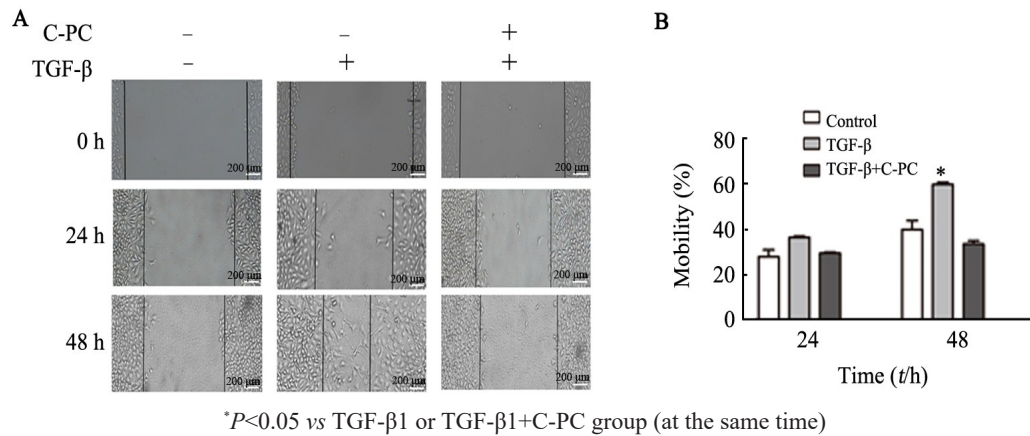
Caski 细胞分组加药处理 24 h 后镜下观察细胞形态结果(图 1)显示, TGF- β 1 处理组细胞形态发生明显的改变, 由原来的多边形变为长梭型, 细胞与细胞之间的连接变得松散, 失去原有的上皮表型的特征, 向间质表型特征转变; TGF- β 1+C-PC 共处理组细胞与对照组细胞形态相近, 呈多边形, 基本保持正常的上皮表型的特征, 细胞排列紧密。

图 1 TGF- β 1 和 C-PC 对 Caski 细胞形态的影响Fig.1 Effects of TGF- β 1 and C-PC on morphology of Caski cells

2.2 C-PC 抑制 TGF- β 1 诱导的 Caski 细胞迁移

划痕实验结果(图 2)显示, 药物处理 48 h 后, TGF- β 1 处理组细胞迁移率显著高于 TGF- β 1+C-PC 共处理组和对照组 [(60.0 \pm 1.4)% vs (33.5 \pm 2.2)%、

(40.0 \pm 2.8)%], 均 $P < 0.05$], 而 TGF- β 1+C-PC 共处理组和对照组之间的细胞迁移率没有显著差异 ($P > 0.05$)。



* $P < 0.05$ vs TGF- β 1 or TGF- β 1+C-PC group (at the same time)
 A: Observe migration of Caski cells under a phase contrast microscope; B: Quantitative analysis
图2 C-PC对TGF- β 1诱导后Caski细胞迁移能力的抑制作用
Fig.2 Inhibitory effect of C-PC on the migration ability of Caski cells induced by TGF- β 1

2.3 C-PC抑制TGF- β 1诱导的Caski细胞侵袭

Transwell侵袭实验检测结果(图3)显示,药物处理24 h后,TGF- β 1处理组侵入小室的Caski细胞数量显著高于TGF- β 1+C-PC共处理组和对照组[(108.2±

6.2) vs (25.2±3.1)、(39.8±5.4)个,均 $P < 0.01$],而TGF- β 1+C-PC共处理组和对照组侵入小室的Caski细胞数之间没有显著差异($P > 0.05$)。

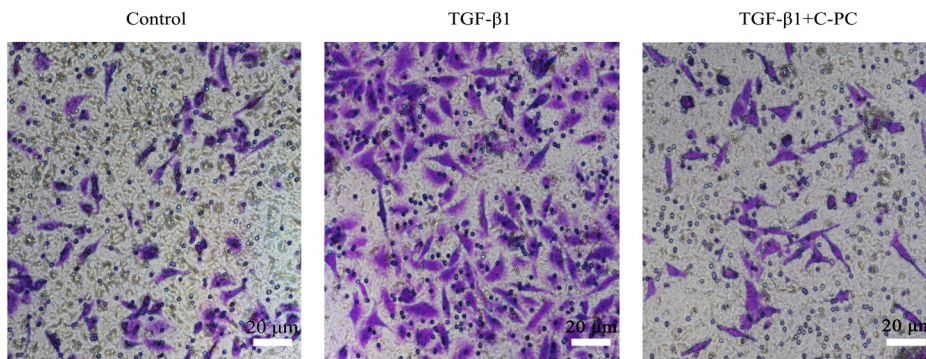


图3 C-PC对TGF- β 1诱导的Caski细胞侵袭的抑制作用
Fig.3 Inhibitory effect of C-PC on the invasion ability of Caski cells induced by TGF- β 1

2.4 C-PC对Caski细胞E-cadherin、N-cadherin的表达影响

WB检测结果(图4)显示,药物处理48 h后,TGF- β 1处理组Caski细胞中E-cadherin的表达水平显著低于对照组和TGF- β 1+C-PC共处理组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),TGF- β 1+C-PC共处理组与对照组无显著差异;同时,TGF- β 1+C-PC共处理组N-cadherin的蛋白表达水平显著低于TGF- β 1处理组和对照组(均 $P < 0.01$),TGF- β 1处理组与对照组间无显著差异。

2.5 C-PC抑制Caski细胞中TGF- β 1诱导的EMT相关基因高表达

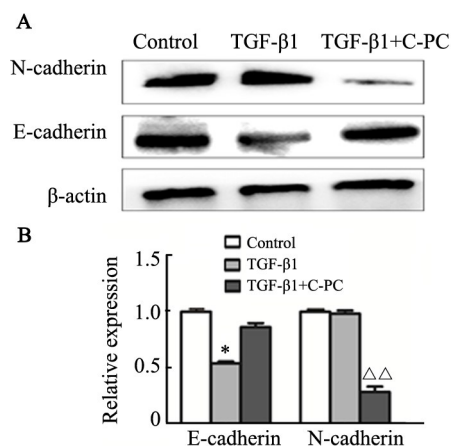
qPCR检测结果(图5)显示,加药处理48 h后,TGF- β 1组Caski细胞内与EMT相关的转录因子Twist、Snail、Zeb1的mRNA表达水平明显高于对照组($P < 0.01$),而TGF- β 1+C-PC共处理组内相关mRNA

水平与对照组无显著差异,均显著低于TGF- β 1组($P < 0.01$)。

3 讨论

宫颈癌患病率为世界绝大多数国家癌症发病的第2位,但在撒哈拉以南的非洲和南亚大部分地区,5年患病率排名第一,每年确诊的宫颈癌新发病例超过50万例,约25万人病死^[10]。目前,宫颈癌的治疗主要是手术结合放射治疗,但宫颈癌的临床症状在发病初期并不明显,在诊断时癌症癌症已经浸润转移,故而病死率很高。

上皮性恶性肿瘤的侵袭和转移大多与获得EMT特性有关^[11-12],因为肿瘤侵袭的基础是肿瘤细胞黏附能力的降低和迁移动力的增强^[13]。因此,抑制肿瘤的早期转移,阐明肿瘤转移的分子机制,寻找有效的措

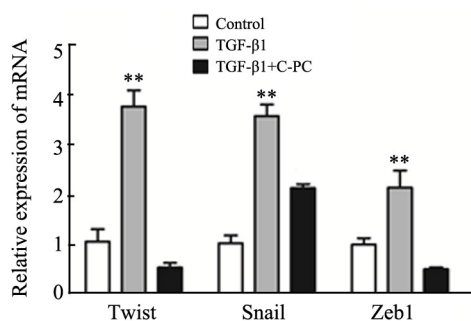


* $P < 0.05$ vs Control or TGF- β 1+C-PC group;

$\Delta\Delta P < 0.01$ vs Control or TGF- β 1 group

A: The expression of E-cadherin and N-cadherin was determined by WB; B: Graphical presentation of the relative expression of E-cadherin and N-cadherin

图4 C-PC对Caski细胞E-cadherin、N-cadherin表达的影响
Fig.4 Effects of C-PC on the expressions of E-cadherin and N-cadherin in Caski cells



** $P < 0.01$ vs Control or TGF- β 1+C-PC group

图5 C-PC与TGF- β 1对Caski细胞中Twist、Snail、Zeb1 mRNA表达的影响

Fig.5 Effects of C-PC and TGF- β 1 on mRNA expressions of Twist, Snail, Zeb1 in Caski cells

施控制其转移是宫颈腺癌研究的重点。在肿瘤发生的早期阶段, TGF- β 1可以抑制细胞增殖、诱导凋亡,而在肿瘤的晚期,它通过诱导血管生成和促进免疫逃逸^[14]来促进肿瘤细胞的浸润和转移。C-PC由 α 和 β 亚基组成,呈深蓝色,具有抗氧化、抗炎等药理作用。PARK等^[15]发现螺旋藻中C-PC含量最高,抗氧化活性最高。CERVANTES-LLANOS等^[16]首次发现小鼠口服C-PC能够改善实验性自身免疫性脑脊髓炎啮齿动物神经炎症、防止脱髓鞘和轴突丢失。因此,C-PC作为一种潜在的药物具有重要的开发利用价值,已成为药物研究领域的新热点。越来越多的研究表明C-PC具有抗癌作用,可以阻断癌细胞的增殖,杀死癌细胞。JIANG等^[17]研究发现,C-PC通过激活p38MAPK和JNK信号通路,抑制ERK信号通路,诱

导MDA-MB-231细胞凋亡。PATTARAYAN等^[9]发现,C-PC可抑制TGF- β 1诱导的A549、MCF-7细胞增殖,并使A549细胞周期阻滞于S期和G2/M期,发挥抑制EMT作用。然而,目前关于C-PC对宫颈癌细胞EMT影响的详细报道很少。在本研究中,TGF- β 1诱导的Caski细胞表现出间质表型,如梭形细胞样形态,而同时用C-PC处理的细胞仍保持上皮细胞表型。进一步研究还发现C-PC可阻止TGF- β 1诱导的Caski细胞的迁移和侵袭。

肿瘤转移涉及癌细胞的黏附、迁移和侵袭。先前的研究^[18]报道Snail是E-cadherin的转录调控因子和上游调控因子,负调控E-cadherin的表达。当EMT发生时,Snail上调、E-cadherin下调,促进上皮细胞向间充质表型转化,从而促进肿瘤转移^[19]。Zeb1是Zeb转录因子家族的重要组成部分,Zeb1的表达水平与E-cadherin的表达水平呈负相关^[20-21]。Twist是EMT中的重要转录因子,在发育中起重要作用,还具有促进肿瘤侵袭和转移的能力,并且在多种恶性肿瘤中有高水平的表达^[21]。在本研究中,在TGF- β 1处理的细胞中,Twist、Snail、Zeb1 mRNA表达水平被TGF- β 1显著上调,而同时加入C-PC可消除TGF- β 1的促表达作用。这些结果表明,C-PC可能通过下调转录因子的表达来抑制TGF- β 1诱导的Caski细胞的EMT。

综上所述,本研究证实TGF- β 1可以诱导宫颈鳞上皮Caski细胞向间质表型转化,C-PC抑制了Caski细胞的EMT,并抑制了癌细胞的侵袭迁移能力,这可能为晚期宫颈癌的治疗和预防提供新思路。

[参考文献]

- [1] BRAY F, REN J S, MASUYER E, et al. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008[J]. Int J Cancer, 2013, 132(5): 1133-1145. DOI:10.1002/ijc.27711.
- [2] GANDALOVIČOVÁ A, ROSEL D, FERNANDES M, et al. Migrastatics-anti-metastatic and anti-invasion drugs: promises and challenges[J]. Trends Cancer, 2017, 3(6): 391-406. DOI: 10.1016/j.trecan.2017.04.008.
- [3] DERYNCK R, BUDI E H. Specificity, versatility, and control of TGF- β family signaling[J/OL]. Sci Signal, 2019, 12(570): eaav5183 [2019-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6800142/>. DOI:10.1126/scisignal.aav5183.
- [4] MA J, LI J J, WANG Y, et al. WSZG inhibits BMSC-induced EMT and bone metastasis in breast cancer by regulating TGF- β 1/Smads signaling[J]. Biomedicine Pharmacother, 2020, 121: 109617. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109617.
- [5] 刘慧慧,姜良乾,王玉娟,等.藻蓝蛋白抗肿瘤的应用现状[J].肿瘤防治研究, 2018, 45(6): 420-424. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2018.17.1464.
- [6] YANG P, LI B, YIN Q F, et al. Carboxymethyl chitosan nanoparticles coupled with CD59-specific ligand peptide for targeted delivery of C-phycocyanin to HeLa cells[J/OL]. Tumour Biol, 2017, 39

- (3): 1010428317692267[2019-12-10]. https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1010428317692267?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rft_dat=cr_pub++pubmed. DOI: 10.1177/1010428317692267.
- [7] TONG F, TANG X Y, LIU D J. Phycocyanin/PEG-b-(PG-g-PEI) attenuated hepatic ischemia/reperfusion-induced pancreatic islet injury and enlarged islet functionality[J/OL]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 339-351[2019-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6322515/>. DOI:10.2147/IJN.S190938.
- [8] WEN P, HU T G, WEN Y, et al. Targeted delivery of phycocyanin for the prevention of colon cancer using electrospun fibers[J]. *Food Funct*, 2019, 10(4): 1816-1825. DOI:10.1039/c8fo02447b.
- [9] PATTARAYAN D, RAJARAJAN D, AYYANAR S, et al. C-phycocyanin suppresses transforming growth factor- β 1-induced epithelial mesenchymal transition in human epithelial cells[J]. *Pharmacol Rep*, 2017, 69(3): 426-431. DOI:10.1016/j.pharep.2016.12.013.
- [10] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA: A Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108. DOI:10.3322/caac.21262.
- [11] RICHARDSON L S, TAYLOR R N, MENON R. Reversible EMT and MET mediate amnion remodeling during pregnancy and labor [J/OL]. *Sci Signal*, 2020, 13(618): eaay1486[2019-12-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32047115-reversible-emt-and-met-mediate-amnion-remodeling-during-pregnancy-and-labor/>. DOI:10.1126/scisignal.aay1486.
- [12] ROMEO E, CASERTA C A, RUMIO C, et al. The vicious cross-talk between tumor cells with an EMT phenotype and cells of the immune system[J/OL]. *Cells*, 2019, 8(5): E460[2019-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6562673/>. DOI: 10.3390/cells8050460.
- [13] YANG Z Y, XIE Q G, CHEN Z L, et al. Resveratrol suppresses the invasion and migration of human gastric cancer cells via inhibition of MALAT1-mediated epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(3): 1569-1578. DOI:10.3892/etm.2018.7142.
- [14] JOAN M. TGFbeta in cancer [J]. *Cell*, 2008, 134(2): 215-230. DOI: 10.1016/j.cell.2008.07.001.
- [15] PARK W S, KIM H J, LI M, et al. Two classes of pigments, carotenoids and C-phycocyanin, in *Spirulina* powder and their antioxidant activities[J/OL]. *Molecules*, 2018, 23(8): E2065[2019-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6222893/>. DOI: 10.3390/molecules23082065.
- [16] CERVANTES-LLANOS M, LAGUMERSINDEZ-DENIS N, MARÍN-PRIDA J, et al. Beneficial effects of oral administration of C-Phycocyanin and Phycocyanobilin in rodent models of experimental autoimmune encephalomyelitis[J/OL]. *Life Sci*, 2018, 194: 130-138[2019-12-10]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024-3205\(17\)30682-3](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0024-3205(17)30682-3). DOI:10.1016/j.lfs.2017.12.032.
- [17] JIANG L Q, WANG Y J, LIU G X, et al. C-Phycocyanin exerts anticancer effects via the MAPK signaling pathway in MDA-MB-231 cells[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18: 12[2019-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5785878/>. DOI: 10.1186/s12935-018-0511-5.
- [18] KEE, HAN Y H, MUN J G, et al. Effect of Korean Red Ginseng extract on colorectal lung metastasis through inhibiting the epithelial-mesenchymal transition via transforming growth factor- β 1/Smad-signaling-mediated Snail/E-cadherin expression[J]. *J Ginseng Res*, 2019, 43(1): 68-76. DOI:10.1016/j.jgr.2017.08.007.
- [19] LOH C Y, CHAI J Y, TANG T F, et al. The E-cadherin and N-cadherin switch in epithelial-to-mesenchymal transition: signaling, therapeutic implications, and challenges[J/OL]. *Cells*, 2019, 8(10): E1118[2019-12-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6830116/>. DOI:10.3390/cells8101118.
- [20] LIU Y, YE F, LI Q, et al. Zeb1 represses Mitf and regulates pigment synthesis, cell proliferation, and epithelial morphology[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(11): 5080-5088. DOI: 10.1167/iops.08-2911.
- [21] LI J, KHAN M A, WEI C, et al. Thymoquinone inhibits the migration and invasive characteristics of cervical cancer cells SiHa and CaSki in vitro by targeting epithelial to mesenchymal transition associated transcription factors Twist1 and Zeb1 [J]. *Molecules*, 2017, 22(12): 2105[2019-12-10]: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/12/2105>. DOI: 10.3390/molecules22122105.

[收稿日期] 2019-12-24

[修回日期] 2020-02-21

[本文编辑] 黄静怡