

• 论著 •

Twinfilin-1 过表达缓解镉诱导肾细胞重金属中毒及凋亡^{*}

郭艳红 吴琴宁 邓权 周强

(贵州省第二人民医院, 贵州 贵阳 550000)

【摘要】 目的 探究细胞骨架调控蛋白 Twinfilin-1 过表达对镉诱导肾细胞重金属中毒及凋亡的影响。**方法** 体外培养猪肾细胞 LLC-PK1, 随机分为对照组、模型组、模型+pc DNA 空载体组、模型+Twinfilin-1 过表达组, 以 8 $\mu\text{mol/L}$ 镉处理细胞 24 h 建立重金属中毒模型。采用实时荧光 PCR 技术和蛋白印迹实验检测 Twinfilin-1 的表达, CCK8 实验检测细胞增殖, 流式细胞术检测细胞凋亡和线粒体膜电位的变化, 蛋白印迹检测凋亡相关蛋白[B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(Caspase3、9)]水平。**结果** 与对照组比较, 模型组 Twinfilin-1 mRNA 及蛋白水平、细胞增殖能力、线粒体膜电位降低, 细胞凋亡率、Bax/Bcl-2、cleaved cas9/cas9 及 cleaved cas3/cas3 水平增加($P<0.05$); 与模型组比较, 模型+Twinfilin-1 过表达组 Twinfilin-1 mRNA 及蛋白水平、细胞增殖能力、线粒体膜电位增加, 细胞凋亡率、Bax/Bcl-2、cleaved cas9/cas9 及 cleaved cas3/cas3 水平降低($P<0.05$), 而模型组+pc DNA 空载体组无明显变化($P>0.05$)。**结论** Twinfilin-1 过表达可能通过下调凋亡关键因子 Bax/Bcl-2 水平, 抑制 Caspase3、9 的活化, 减少细胞凋亡, 维持正常线粒体膜电位, 从而保护镉诱导肾细胞重金属中毒。

【关键词】 Twinfilin-1; 镉; 肾细胞; 重金属中毒; 凋亡; 线粒体损伤

【中图分类号】 R329.2⁺5 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2022.04.010

Study of Twinfilin-1 overexpression relieving heavy metal poisoning and apoptosis of cadmium-induced renal cells

GUO Yanhong, WU Qinning, DENG Quan, ZHOU Qiang

(The Second people's Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550000, China)

【Abstract】 Objective To explore the effects of cytoskeleton regulatory protein Twinfilin-1 overexpression on heavy metal poisoning and apoptosis of cadmium-induced renal cells. **Methods** Porcine renal cells LLC-PK1 were cultured in vitro and randomly divided into control group, model group, model+pc DNA empty vector group and model+Twinfilin-1 overexpression group. Cells were treated with 8 $\mu\text{mol/L}$ of cadmium for 24 h to establish the model of heavy metal poisoning. The expression of Twinfilin-1 was detected by real-time fluorescent PCR and Western blot. The cells proliferation was detected by CCK8. The apoptosis and changes in mitochondrial membrane potentials (MMP) were detected by flow cytometry. The expressions of apoptosis-related proteins [B cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), cysteine aspartate specific proteases (Caspase3, 9)] were detected by Western blot. **Results** Compared with control group, expression of Twinfilin-1 mRNA and protein, ability of cells proliferation, MMP decrease, apoptosis rate, Bax/Bcl-2, cleaved cas9/cas9 and cleaved cas3/cas3 levels were increased in model group ($P<0.05$). Compared with model group, expression of Twinfilin-1 mRNA and protein, ability of cells proliferation, MMP increase, apoptosis rate, Bax/Bcl-2, cleaved cas9/cas9 and cleaved cas3/cas3 levels were decreased in model+Twinfilin-1 overexpression group ($P<0.05$), but there was no significant change in model+pc DNA empty vector group ($P>0.05$). **Conclusion** Twinfilin-1 overexpression may inhibit the activation of Caspase3 and 9, reduce apoptosis and maintain normal MMP by reducing level of key apoptosis factor Bax/Bcl-2, thereby protecting from heavy metal poisoning of cadmium-induced renal cells.

【Key words】 Twinfilin-1; Cadmium; Renal heavy metal poisoning; Apoptosis; Mitochondrial damage

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合平台人才[2020]2201号)

通信作者: 吴琴宁, 副主任医师, E-mail: 15213139899@163.com

引用本文: 郭艳红, 吴琴宁, 邓权, 等. Twinfilin-1 过表达缓解镉诱导肾细胞重金属中毒及凋亡[J]. 西部医学, 2022, 34(4): 520-524. DOI: 10.

3969/j.issn.1672-3511.2022.04.010

镉是一种具有广泛用途的金属元素,可用于电镀、充电电池、制造电工合金等,与人类生活息息相关^[1]。但镉及化合物均有一定的生物毒性,若受污染的土壤或水体被动植物吸收后,沿着食物链进入人体,将对机体组织器官产生毒性损伤^[2]。肾脏是镉主要的蓄积部位,其与硫基类蛋白形成的复合物可对肾小管和肾小球产生不可逆的损伤^[3]。关于镉诱导的肾损伤机制有较多报道,大多认为与细胞凋亡、氧化损伤有关^[4-5],但其作用机制尚不完全清楚。Twinfilin-1 属于肌动蛋白结合蛋白家族成员,在细胞骨架重塑过程中发挥重要作用,与细胞结构形成及细胞凋亡等病理生理过程密切相关^[6]。但国内 Twinfilin-1 与镉诱导肾损伤的相关研究较少,本研究将探究镉诱导肾细胞重金属中毒中 Twinfilin-1 基因的表达及其对细胞凋亡的影响,这对于明确镉诱导肾细胞凋亡机制具有重要的参考价值。

1 材料与方法

1.1 细胞株来源 猪肾细胞 LLC-PK1 购于美国组织培养库 ATCC。

1.2 主要试剂与仪器 氯化镉(天津市风船化学试剂科技有限公司),取 1 g 氯化镉溶于 4.4 mL 双蒸水制备为 1 mol/L 镉母液,脂质体 2000 试剂盒(美国 Invitrogen),CCK8 试剂盒(日本同仁化学研究所),Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡试剂盒、JC-1 探针(美国 BD),GAPDH、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(Caspase3、9)、切割后 Caspase3、9(cleaved cas3、9)抗体(美国 Abcam),pc DNA 空载体、pc DNA-Twinfilin-1 质粒由上海生工生物股份有限公司提供,Twinfilin-1 基因引物由上海基尔顿生物科技有限公司提供,荧光 PCR 仪、凝胶成像仪(美国 Bio-Rad),流式细胞仪(美国 BD)。

1.3 细胞培养 将猪肾细胞 LLC-PK1 均匀悬浮于含有 5% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,置于 37℃、5%CO₂ 条件下培养,待细胞贴壁密度达 80%~90%时传代培养,取状态良好的细胞用于后续实验。

1.4 细胞分组与处理 稀释 1 mol/L 镉母液至 8 μmol/L,处理细胞 24 h 建立重金属中毒模型^[7],将细胞随机分为对照组、模型组、模型+pc DNA 空载体组、模型+Twinfilin-1 过表达组。模型+pc DNA 空载体组、模型+Twinfilin-1 过表达组参照脂质体 2000 试剂盒操作,将 pc DNA 空载体、pc DNA-Twinfilin-1 转染细胞 48 h,收集细胞通过实时荧光 PCR 技术和蛋白印迹实验验证转染效果。

1.5 实时荧光 PCR 技术检测 Twinfilin-1 mRNA 表达水平 采用 Trizol 试剂提取细胞中总 RNA,再逆转录合成 cDNA,Twinfilin-1 上游引物序列为 5'-GCGUGGUCUCCUGAUCAUUTT-3',下游引物序列为 5'-CCCAAAGAUGCAGCACGUUTT-3'。PCR 条件:94℃预变性 10 min,94℃变性 30 s,60℃退火 45 s,JP 总 40 个循环。采用 2^{-△△Ct} 相对定量法,以 GAPDH 为内参,计算 Twinfilin-1 mRNA 的相对水平。

1.6 蛋白印迹检测相关蛋白水平 采用 RIPA 裂解液提取细胞中总蛋白,经 BCA 法测定蛋白浓度,取 70 μg 变性蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,蛋白分离后切取目的蛋白凝胶转移至 PVDF 膜,取出 PVDF 膜经 5%脱脂牛奶室温孵育 2 h,封闭非特异性位点,再置于 1:1000 蛋白一抗中 4℃孵育过夜,接着置于 1:8000 蛋白二抗中 37℃孵育 1 h,最后添加 ECL 发光试剂,置于凝胶成像仪上成像,通过 Quantity One 软件对蛋白条带进行灰度分析。

1.7 CCK8 实验检测细胞增殖 将各组细胞接种于 96 孔板,常规培养 24、48、72、96 h,向孔中添加含有 10% CCK8 试剂的培养基,继续培养 4 h,于 450 nm 处检测各孔吸光度值。

1.8 流式细胞术检测细胞凋亡 收集各组细胞,调整浓度至 1×10⁶/L,取 100 μL 细胞悬液分别加入 Annexin V-FITC、PI 染液各 5 μL,室温下避光孵育 30 min,再添加 400 μL 结合缓冲液,混匀后上流式细胞仪检测,计算凋亡细胞占细胞总数的百分比。

1.9 流式细胞仪检测细胞线粒体膜电位的变化 收集各组细胞,调整浓度至 1×10⁶/L,取 100 μL 细胞悬液加入 10 mg/L JC-1 探针,37℃孵育 30 min,采用流式细胞仪检测。正常线粒体内 JC-1 聚集于线粒体基质中形成聚合物,呈红色荧光,而受损线粒体由于膜电位下降或丧失,JC-1 只能以单体形式存在于胞浆,呈绿色荧光。

1.10 统计学分析 采用统计学软件 SPSS18.0 进行分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LLC-PK1 细胞转染情况 实时荧光 PCR 技术和蛋白印迹检测细胞中 Twinfilin-1 的表达结果显示,与对照组比较,模型组 Twinfilin-1 mRNA 及蛋白水平降低($P < 0.05$);与模型组比较,模型+Twinfilin-1 过表达组 Twinfilin-1 mRNA 及蛋白水平增加($P < 0.05$),而模型组+pc DNA 空载体组无明显变化($P > 0.05$),见图 1。

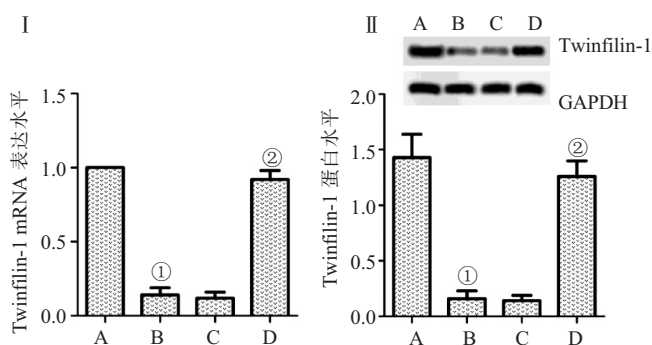


图 1 LLC-PK1 细胞转染情况

Figure 1 Transfection of LLC-PK1 cells

注: I. 实时荧光 PCR 技术检测 Twinfilin-1 mRNA 水平, II. 蛋白印迹检测 Twinfilin-1 蛋白水平; A. 对照组, B. 模型组, C. 模型+pc DNA 空载体组, D. 模型+Twinfilin-1 过表达组; 与对照组比较, ① $P<0.05$; 与模型组比较, ② $P<0.05$

2.2 Twinfilin-1 过表达对细胞增殖的影响 CCK8 实验检测细胞增殖能力结果显示, 培养 96 h 时, 与对照组比较, 模型组细胞增殖能力降低($P<0.05$); 与模型组比较, 模型+Twinfilin-1 过表达组细胞增殖能力增加($P<0.05$), 而模型组+pc DNA 空载体组无明显变化($P>0.05$), 见图 2。

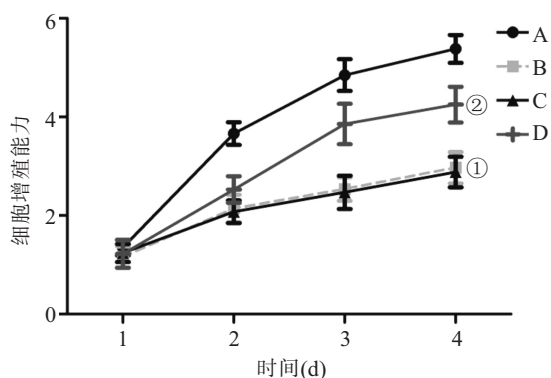


图 2 Twinfilin-1 过表达对细胞增殖的影响

Figure 2 Twinfilin-effect of overexpression of bcl-1 on cell proliferation

注: A. 对照组, B. 模型组, C. 模型+pc DNA 空载体组, D. 模型+Twinfilin-1 过表达组; 与对照组比较, ① $P<0.05$; 与模型组比较, ② $P<0.05$

2.3 Twinfilin-1 过表达对细胞凋亡的影响 流式细胞术检测细胞凋亡水平结果显示, 与对照组比较, 模型组细胞凋亡率增加($P<0.05$); 与模型组比较, 模型+Twinfilin-1 过表达组细胞凋亡率降低($P<0.05$), 而模型组+pc DNA 空载体组无明显变化($P>0.05$), 见图 3。

2.4 Twinfilin-1 过表达对凋亡相关蛋白水平的影响 蛋白印迹检测凋亡相关蛋白水平结果显示, 与对照组比较, 模型组细胞中 Bax/Bcl-2、cleaved cas9/cas9 及 cleaved cas3/cas3 水平增加($P<0.05$); 与

模型组比较, 模型+Twinfilin-1 过表达组 Bax/Bcl-2、cleaved cas9/cas9 及 cleaved cas3/cas3 水平降低($P<0.05$), 而模型组+pc DNA 空载体组无明显变化($P>0.05$), 见图 4。

2.5 Twinfilin-1 过表达对细胞线粒体膜电位的影响

流式细胞术检测细胞线粒体膜电位的变化结果显示, 与对照组比较, 模型组细胞线粒体膜电位降低($P<0.05$); 与模型组比较, 模型+Twinfilin-1 过表达组线粒体膜电位升高($P<0.05$), 而模型组+pc DNA 空载体组无明显变化($P>0.05$), 见图 5。

3 讨论

镉在体内半衰期长达 30~40 年, 且极易在人体内积聚, 具有严重的致畸性和致癌性^[8]。人体镉暴露后, 主要表现为肠胃炎、肝功能异常、肾炎和骨质疏松等; 肾脏被认为是镉毒性的主要靶器官, 其毒性损伤影响机制尚无定论^[9]。研究显示, 电镜下观察肾细胞形态发现, 随着镉浓度的增加, 肾细胞的凋亡率也升高^[10]。活性氧所致的氧化应激损伤, 被认为是造成肾细胞凋亡的重要环节, 镉可作用于线粒体产生大量活性氧, 并抑制抗氧化系统酶活性, 大量活性氧的堆积将破坏线粒体膜的通透性, 引起线粒体膜电位下降, 最终导致肾脏细胞的凋亡^[11]。同时, 脂质过氧化终产物丙二醛可生成聚合物, 与人体内蛋白质、脱氧核糖核酸发生反应, 从而诱发细胞凋亡^[12-13]。另外, 镉对巯基有高亲和力, 其与巯基蛋白结合, 进而致线粒体膜功能紊乱, 释放凋亡诱导因子而引起细胞凋亡^[14]。

Twinfilin-1 普遍存在于植物细胞以外的所有真核细胞中, 可调控胞内弹性纤维的长度与排序, 对于维持细胞形态、细胞结构、能量转换、细胞增殖、凋亡等动态运动有重要作用^[15]。Li 等^[16]研究显示, Twinfilin-1 在牛乳腺上皮细胞中受氨基酸和激素的诱导, 可通过 mTOR 通路调控乳汁的生物合成和牛乳腺上皮细胞增殖。Sun 等^[17]研究发现, miR-30c 可靶向抑制 Twinfilin-1, 抑制胰腺癌细胞增殖, 并诱导其凋亡。本研究探讨了 Twinfilin-1 在镉诱导肾细胞重金属中毒发生中的作用, 以 LLC-PK1 细胞为研究对象, 经镉处理后发现细胞中 Twinfilin-1 表达下调, 同时, 细胞增殖、凋亡检测结果表明, Twinfilin-1 过表达后可明显逆转镉诱导的肾细胞增殖能力降低、凋亡率升高及线粒体膜电位下降。推测 Twinfilin-1 可能是镉诱导肾细胞重金属中毒发生中的一个关键因素。

细胞凋亡过程涉及到凋亡相关蛋白表达的改变, Bcl-2 蛋白家族是线粒体膜蛋白, Bax/Bcl-2 是启动细胞凋亡的分子开关, 其激活内源性线粒体凋亡信号通路, 将引起线粒体因子的释放, 进而活化 Caspase 蛋

白家族,最终启动细胞凋亡^[18-20]。进一步在蛋白分子水平探索 Twinfilin-1 过表达后引起凋亡/增殖失衡的机制结果显示,与模型组比较,Twinfilin-1 过表达组 Bax/Bcl-2、cleaved cas9/cas9 及 cleaved cas3/cas3 水

平降低,提示 Twinfilin-1 过表达可能通过下调 Bax/Bcl-2 水平,抑制 Caspase3、9 的活化,减少镉诱导肾细胞凋亡,但 Twinfilin-1 是直接还是间接影响上述蛋白表达还不清楚,仍有待深入分析。

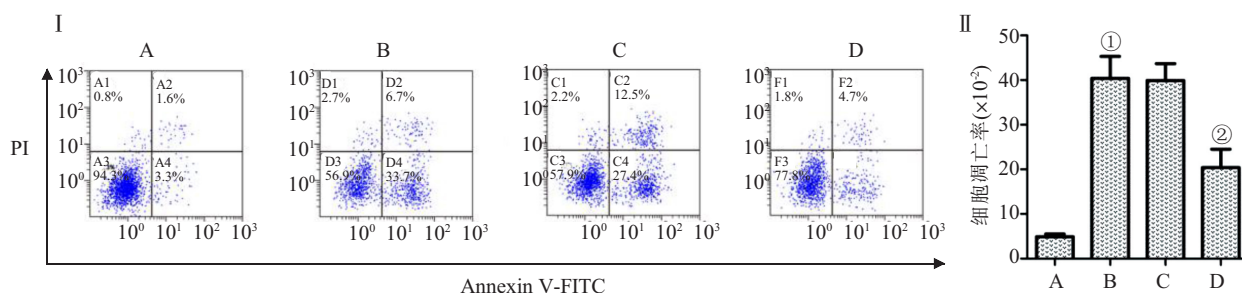


图 3 Twinfilin-1 过表达对细胞凋亡的影响

Figure 3 The effect of overexpression of twinfilin-1 on apoptosis

注: I. 流式细胞术检测细胞凋亡水平, II. 各组细胞凋亡率的比较; A. 对照组, B. 模型组, C. 模型组 + pc DNA 空载体组, D. 模型 + Twinfilin-1 过表达组; 与对照组比较, ① $P < 0.05$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$

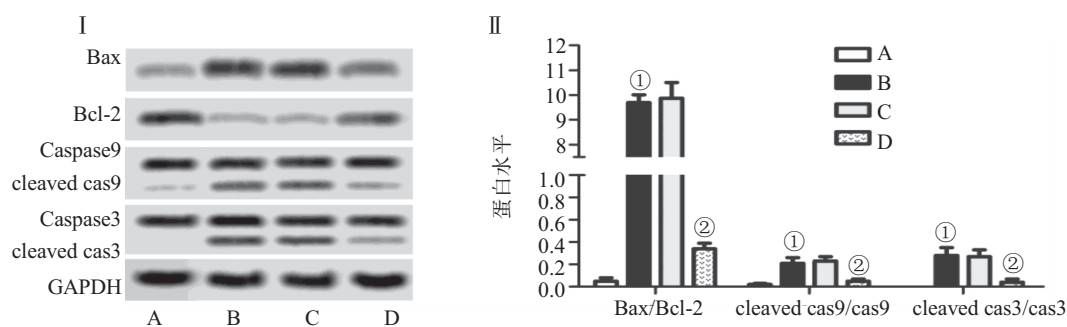


图 4 Twinfilin-1 过表达对凋亡相关蛋白水平的影响

Figure 4 Effect of twinfilin-1 overexpression on the expression of apoptosis related proteins

注: I. 蛋白印迹检测凋亡相关蛋白水平, II. 各组细胞中 Bax/Bcl-2、cleaved cas9/cas9 及 cleaved cas3/cas3 水平的比较; A. 对照组, B. 模型组, C. 模型组 + pc DNA 空载体组, D. 模型 + Twinfilin-1 过表达组; 与对照组比较, ① $P < 0.05$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$

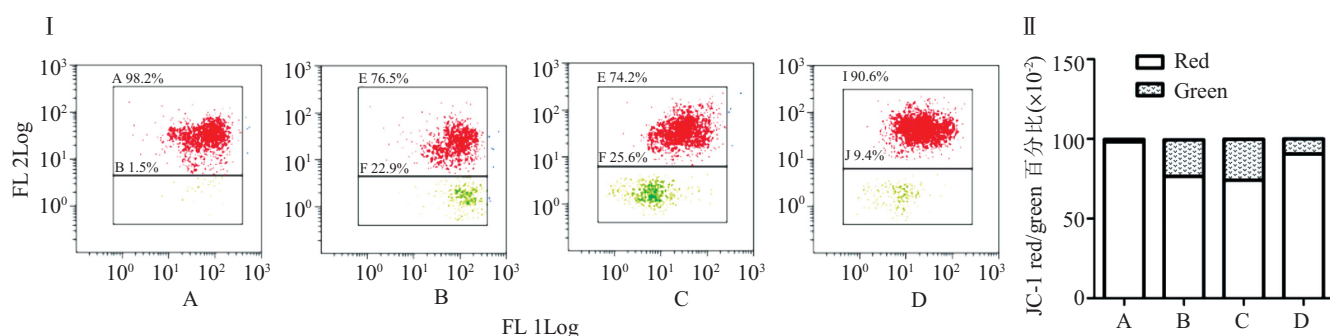


图 5 Twinfilin-1 过表达对细胞线粒体膜电位的影响

Figure 5 Effect of twinfilin-1 overexpression on mitochondrial membrane potential

注: I. 流式细胞术检测细胞线粒体膜电位的变化, II. 各组细胞线粒体膜电位的比较; A. 对照组, B. 模型组, C. 模型组 + pc DNA 空载体组, D. 模型 + Twinfilin-1 过表达组

4 结论

Twinfilin-1 过表达可能通过下调凋亡关键因子 Bax/Bcl-2 水平,抑制 Caspase3、9 的活化,减少细胞

凋亡,维持正常线粒体膜电位,从而保护镉诱导肾细胞重金属中毒,这为镉中毒患者的临床治疗提供了一定的理论依据。

【参考文献】

- [1] 李明,程寒飞,安忠义,等. 化学淋洗与生物炭稳定化联合修复镉污染土壤[J]. 环境工程学报, 2018, 12(3): 904-913.
- [2] 宋波,杨子杰,张云霞,等. 广西西江流域土壤镉含量特征及风险评估[J]. 环境科学, 2018, 39(4): 446-458.
- [3] CHEN X, ZHU G, WANG Z, *et al.* The association between lead and cadmium co-exposure and renal dysfunction[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 173(5): 429-435.
- [4] CHEN Z, GU D, MING Z, *et al.* Regulatory role of miR-125a/b in the suppression by selenium of cadmium-induced apoptosis via the mitochondrial pathway in LLC-PK1 cells[J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 243: 35-44.
- [5] 董峰,杨佳,李向阳,等. 镉通过引发氧化应激和线粒体损伤诱导 PK-15 细胞凋亡[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2018, 34(11): 55-63.
- [6] PINTO C, MARONI L, GIORDANO D M, *et al.* Ageing-related expression of Twinfilin-1 regulates cholangiocyte biological response to injury[J]. *Hepatology*, 2019, 70(3): 883-898.
- [7] HOSOHATA K, MISE N, KAYAMA F, *et al.* Augmentation of cadmium-induced oxidative cytotoxicity by pioglitazone in renal tubular epithelial cells[J]. *Toxicol Ind Health*, 2019, 35(8): 530-536.
- [8] 雷立健,康辉,郭建勇,等. 环境镉暴露致肾功能损伤: TGF- β 1/Smad3 及其相关微小 RNA 的作用[J]. 环境与职业医学, 2019, 36(6): 511-518.
- [9] LIU Y, HUO X, XU L, *et al.* Hearing loss in children with e-waste lead and cadmium exposure[J]. *Sci Total Environ*, 2018, 624(1): 599-610.
- [10] 卢青,易建华,范小琳,等. 银杏叶提取物对氯化镉损伤人肾近曲小管细胞的保护作用实验研究[J]. 现代预防医学, 2019, 46(9): 53-57.
- [11] ZHUANG J, NIE G, YANG F, *et al.* Cadmium induces cytotoxicity through oxidative stress-mediated apoptosis pathway in duck renal tubular epithelial cells[J]. *Toxicol In Vitro*, 2019, 61(2): 104625.
- [12] HUANG K, DENG Y, YUAN W, *et al.* Phospholipase D1 ameliorates apoptosis in chronic renal toxicity caused by low-dose cadmium exposure[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 1-12.
- [13] 刘兰瑞,孙进华,李梅,等. 乌司他丁联合支气管镜肺泡灌洗防治大面积烧伤合并呼吸损伤患者肺部感染的效果及对氧化应激,炎症反应的影响[J]. 临床误诊误治, 2020, 295(3): 63-68.
- [14] WANG C, NIE G, ZHUANG Y, *et al.* Inhibition of autophagy enhances cadmium-induced apoptosis in duck renal tubular epithelial cells[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 205: 111188.
- [15] 徐晓东,李慎,陈亚峰,等. miRNA-126 下调细胞骨架调控蛋白 Twinfilin-1 对心肌细胞肥大的抑制效应[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(22): 148-152.
- [16] LI L, LIU L, QU B, *et al.* Twinfilin 1 enhances milk bio-synthesis and proliferation of bovine mammary epithelial cells via the mTOR signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 492(3): 289-294.
- [17] SUN L L, CHENG M, XU X D. MicroRNA-30c inhibits pancreatic cancer cell proliferation by targeting twinfilin 1 and indicates a poor prognosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(42): 6311-6321.
- [18] 唐亚纯,许武军,陈仙,等. H2S 通过调控 iNOS/HO-1/Bax/Caspase3 轴对尿源性脓毒症所致急性肾损伤的保护作用研究[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(20): 2433-2437.
- [19] BANIK S, AKTER M, CORPUS BONDAD S E, *et al.* Carvacrol inhibits cadmium toxicity through combating against caspase dependent/independent apoptosis in PC12-cells[J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 134: 110835.
- [20] 赵舒杨,雷艳杰,马世杰,等. 龙葵碱联合 KLF16 基因对胶质瘤细胞增殖,凋亡的影响及其机制研究[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 62(4): 61-67.

(收稿日期: 2021-04-20; 修回日期: 2021-06-03; 编辑: 黎仕娟)

(上接第 519 页)

- [14] KE B, WANG XN, LIU N, *et al.* Sonic hedgehog/Gli1 signaling pathway regulates cell migration and invasion via induction of epithelial-to-mesenchymal transition in gastric cancer [J]. *J Cancer*, 2020, 11(13): 3932-3943.
- [15] PARK J J, HAH Y S, RYU S, *et al.* Periostin plays a key role in radioresistance of head and neck cancer cells via epithelial-to-mesenchymal transition [J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(5): 2627-2635.
- [16] TEEUWSEN M, FODDE R. Wnt signaling in ovarian cancer stemness, EMT, and therapy resistance [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(10): 1658.
- [17] KARIMI ROSHAN M, SOLTANI A, SOLEIMANI A, *et al.* Role of AKT and mTOR signaling pathways in the induction of epithelial-mesenchymal transition (EMT) process [J]. *Biochimie*, 2019, 165: 229-234.
- [18] 徐丹,李瑞阳,巩平,等. 大蒜素抑制胃癌细胞上皮-间质转化作用及其机制[J]. 医药导报, 2021, 40(3): 301-305.
- [19] ZHENG G, LYONS J G, TAN T K, *et al.* Disruption of E-cadherin by matrix metalloproteinase directly mediates epithelial-mesenchymal transition downstream of transforming growth factor-beta1 in renal tubular epithelial cells[J]. *Am J Pathol*, 2009, 175(2): 580-591.
- [20] GAO Y, GUAN Z, CHEN J, *et al.* CXCL5/CXCR2 axis promotes bladder cancer cell migration and invasion by activating PI3K/AKT-induced upregulation of MMP2/MMP9 [J]. *Int J Oncol*, 2015, 47(2): 690-700.
- [21] HUANG H, WU K, MA J, *et al.* Dopamine D2 receptor suppresses gastric cancer cell invasion and migration via inhibition of EGFR/AKT/MMP-13 pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 39: 113-120.

(收稿日期: 2021-03-31; 修回日期: 2022-02-25; 编辑: 黎仕娟)