

## 肝细胞生长因子诱导人肝癌细胞上皮间质转化

宋莹, 刘浩\*, 尹江, 张志杰, 贺智敏

(广东省广州医科大学附属肿瘤医院肿瘤研究所, 广州 510095)

**摘要** 上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)与肿瘤侵袭转移密切相关。虽然肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)已被证实为肿瘤 EMT 的主要诱导剂,但是 HGF 诱导肿瘤 EMT 发生的分子机制尚不完全清楚。本研究旨在探讨 Snail 在 HGF 诱导肝癌细胞上皮间质转化中的作用。用 HGF 处理肝癌 HepG2 和 Hep3B 细胞,显微镜观察细胞形态变化,划痕试验及 Transwell 试验检测细胞迁移能力,Western 印迹检测 Met, AKT 的磷酸化及蛋白质表达的变化,Western 印迹与 real-time RT-PCR 检测上皮细胞表面标志 E-Cadherin 和间质细胞表面标志 N-Cadherin、Fibronectin 的表达变化,以及 EMT 相关转录因子的表达变化。经 HGF 处理的 HepG2、Hep3B 细胞, Met 和 AKT 的磷酸化水平显著增强;相差倒置显微镜下观察细胞形态向间质型细胞形态转化;细胞划痕和 Transwell 试验检测细胞的迁移能力较对照组显著增强;Real-time RT-PCR 和 Western 印迹实验显示 HGF 的诱导能上调间质标记蛋白的表达及下调上皮型标志蛋白的表达。进一步发现, HGF 能上调转录因子 Snail 的表达,干扰 Snail 能逆转 HGF 对 HepG2 和 Hep 3B 细胞 EMT 发生的诱导作用。由此可见, HGF 可能通过诱导 Snail 的表达促进肝癌细胞 EMT 的发生。这为阐明肝癌细胞侵袭转移机制,以及肝癌的防治提供新线索。

**关键词** 肝癌; 肝细胞生长因子; 上皮间质化; Snail

**中图分类号** R73-3

## Hepatocyte Growth Factor-induced Epithelial-mesenchymal Transition in Human Hepatocellular Carcinoma Cells

SONG Ying, LIU Hao\*, YIN Jiang, ZHANG Zhi-Jie, HE Zhi-Min

(Cancer Center of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510095, China)

**Abstract** The epithelial-mesenchymal transition (EMT) is closely associated with the invasion and metastasis of tumors. Hepatocyte growth factor (HGF) can be a main inducer of tumor EMT, but the underlying mechanism is still not clear. In this study, we investigated the effect of Snail on HGF-induced EMT in HepG2 and Hep 3B hepatocellular carcinoma cells. The migration of HepG2 and Hep 3B cells were detected by wound healing and transwell assays. The proteins of p-Met, p-AKT, E-cadherin, Vimentin, Fibronectin, and Snail were determined by Western blotting. The mRNA expression of E-cadherin, vimentin, fibronectin, and Snail were determined by real-time RT-PCR. HGF induced HepG2 and Hep 3B underwent morphological changes from epithelial to mesenchymal appearance with increased migration behavior. HGF1 also up-regulated the expression of mesenchymal marker proteins and down-regulated the epithelial markers, with increased level of Snail expression. The EMT induced by HGF could be blocked by knocking down Snail. It suggested that Snail was involved in the invasion and

收稿日期: 2015-01-06; 接受日期: 2015-04-17

国家自然科学基金(No. 81272450, No. 81302291)

\* 联系人 Tel: 020-66673666-2012; E-mail: haoliu2020@163.com

Received: January 6, 2015; Accepted: April 17, 2015

Supported by National Natural Science Foundation of China(No. 81272450, No. 81302291)

\* Corresponding author Tel: 020-66673666-2012; E-mail: haoliu2020@163.com

metastasis of hepatocellular carcinoma cells.

**Key words** hepatocellular carcinoma; hepatocyte growth factor; epithelial-mesenchymal transition; Snail

原发性肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)简称肝癌,是一种常见的恶性肿瘤。全球每年约有一百万人死于肝癌,严重威胁人类健康<sup>[1]</sup>。目前我国肝癌发病率居世界之首,在肿瘤相关死亡中居第二位,仅次于肺癌<sup>[2]</sup>,这与肝癌具有转移早、临床症状出现晚、复发率高等特点相关<sup>[3]</sup>。新近研究表明,肝癌的复发与转移与上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)密切相关。上皮间质转化是指上皮细胞丧失细胞极性,失去基底膜的连接等表型,获得较高的迁移与侵袭、降解细胞外基质等间质表型的生物学过程。研究发现,肿瘤微环境中分泌的多种生长因子和细胞因子能够激活肿瘤细胞 EMT 转换过程,如转化生长因子(TGF- $\beta$ )、表皮生长因子(EGF)、肝细胞生长因子(HGF)、血管内皮生长因子(VEGF)等均能激活细胞内多条信号通路抑制 E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达,促进波形蛋白(vimentin)表达,从而诱导肿瘤细胞 EMT 发生,增强细胞侵袭和转移能力<sup>[4,5]</sup>。

肝细胞生长因子(HGF)是一种具有多种生物学活性的多肽生长因子。HGF 可通过激活其酪氨酸激酶受体 c-Met,促进肝细胞的生长、分化、迁移以及形态发生<sup>[6,7]</sup>。近年来,研究发现 HGF 及其受体(c-Met)通路的过度激活与肝癌的进展和转移密切相关<sup>[8,9]</sup>。体内外模型研究显示,过表达 HGF 或者 c-Met 导致肝癌等多种肿瘤浸润、转移的表型<sup>[10-12]</sup>。进一步研究发现, HGF 促进肝癌浸润与转移可能与其参与诱导肝癌细胞 EMT 发生直接相关<sup>[13]</sup>。本研究旨在明确 HGF 对肝癌细胞 EMT 发生的诱导作用及机制,为阐明肝癌细胞侵袭转移机制、以及肝癌的防治提供新线索。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人肝癌 HepG2 和 Hep 3B 细胞购自中科院上海细胞库。DMEM 培养基,胎牛血清,胰蛋白酶购自 Gibco 公司; Transwell 小室购自 Costar 公司; HGF 购自 Peprotech 公司; E-cadherin, N-cadherin, Fibronectin(FN),  $\beta$ -actin 抗体购自 Santa Cruz 公司; AKT, p-AKT, p-Met, Met, Snail 抗体购自 CST 公司; 预染蛋白质 Marker 购自 Fermentas 公司; HRP 标记

山羊抗鼠 IgG、山羊抗兔 IgG 购自北京鼎国生物技术有限公司; 转染试剂 Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000 购自 Invitrogen 公司; ECL 化学发光底物试剂盒购自 Pierce 公司; Quick Start Bradford 蛋白定量试剂购自 Bio-Rad 公司; 反转录试剂盒、RT-PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司; PCR 引物由上海生工公司合成; 其余试剂均为国产分析纯以上。

### 1.2 细胞培养

人肝癌 HepG2 和 Hep 3B 细胞用含 10% 胎牛血清(FBS)的 DMEM 培养液,于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱内饱和湿度培养。

### 1.3 细胞划痕实验

收集细胞,用胰酶消化成单细胞悬液,按  $2 \times 10^5$  个细胞/mL 密度接种于 6 孔板,37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 12 h。取一个干净的 20  $\mu$ L 无菌枪头,用其尖端分别在 6 孔板的各组细胞上划痕。PBS 清洗细胞 3 次,去除划下的细胞,加入含 0.1% FBS 的 DMEM 培养基。倒置显微镜下观察,取各组细胞培养孔中划痕宽度相等的位置拍照。将细胞放置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中继续培养 48 h 后观察同一位置的细胞迁移情况并拍照。

### 1.4 Transwell 肿瘤细胞迁移实验

将 Transwell 小室放入培养板中,在上室加入 300  $\mu$ L 预温的无血清培养基,室温下静置 15-30 min,使基质胶再水化。消化细胞,用 PBS 洗 2 遍,用无血清培养基重悬。调整细胞密度至  $3 \times 10^5$  个/mL。取细胞悬液 200  $\mu$ L 加入 24 孔板 Transwell 小室。24 孔板下室加入 500  $\mu$ L 含 FBS 的培养基。对种在 24 孔板 Transwell 小室的细胞进行处理。继续培养 48 h 后,对下室细胞进行苏木素染色,每组随机取 5 个视野进行计数,并做柱状图分析药物对细胞侵袭能力的影响。

### 1.5 Real-time RT-PCR

按照 Trizol(Invitrogen)说明书方法提取细胞总 RNA,按 Primescript RT reagent Kit 反转录试剂盒(TaKaRa)说明书将 RNA 逆转录为 cDNA。引物由上海生工生物工程有限公司设计并合成,引物序列如下, E-cadherin 上游引物: 5'-TACACTGCCCA GGAGCCAGA-3',下游引物: 5'-TGG CACCACTG TCCGATTA-3'; FN 上游引物: 5'-GGAGCAAATGG

CACCGAGATA-3', 下游引物: 5'-GAGCTGCACATGTCTTGGGAAC-3'; N-cadherin 上游引物: 5'-CATCCCTCCAATCAACTTGC-3', 下游引物: 5'-ATGTGCCCTCAAATGAAACC-3'; Snail 上游引物: 5'-GACCACTATGCCGCGCTCTT-3', 下游引物: 5'-TCGCTGTAGTTAGGCTTCCGATT-3'; Slug 上游引物: 5'-AGCAGTTGCACTGTGATGCC-3', 下游引物: 5'-ACACAGCAGCCAGATTCCTC-3'; Twist 上游引物: 5'-CGGACAAGCTGAGCAAGATT-3', 下游引物: 5'-CCTTCTCTGGAAACAATGAC-3'; GAPDH 上游引物: 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3', 下游引物: 5'-TGGTGAAGACGCCAGTGGA-3'. Real-time PCR 反应体系及条件参照 SYBR Premix Ex Tap™ 试剂盒 (TaKaRa)  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 mRNA 的相对表达量, 以 GAPDH 作为内参. 每个实验组重复 3 次.

### 1.6 siRNA 合成和转染

在 GenBank 中检索人全长 Snail 基因序列, 根据 siRNA 设计原则, 委托上海吉玛制药技术有限公司设计. Snail siRNA 序列: Snail, 5'-CCACAGAAUGGCCAUGGGAAGGCCUC-3'; 阳性对照 siRNA 序列 5'-UCACAAGGGAGAGAAAGAGAGGAAGGA-3'. 采用 DMEM 完全培养基 (含 10% FBS) 培养接种于 6 孔板的 HepG2 和 Hep3B 细胞, 待细胞密度达 70% 时, 将转染细胞分为 RPMI 1640 空白对照组、NC siRNA 阴性对照组、Snail siRNA 干扰组, 每组设 3 个复孔. 参照 Lipofectamine™ 2000 转染试剂说明书进行转染. 转染 6 h 之后, 更换 DMEM 完全培养基, 加入 HGF 处理, 连续培养 48 h. Western 印迹检测细胞 EMT 标记物的表达情况.

### 1.7 蛋白质提取和 Western 印迹分析

收集细胞, 经 PBS 洗涤后用三去污裂解液 (50

mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 150 mmol/L NaCl, 0.2 g/L 叠氮钠, 100 mg/L Aprotin, 100 mg/L PMSF, 1 g/L SDS, 10 g/L NP-40, 5 g/L 去氧胆酸钠) 裂解, 离心后收集上清, 用 Bradford 法测定蛋白质浓度; 等量蛋白质样品经 10% 的 SDS-PAGE 分离后, 转印至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, AKT、p-AKT、Met、p-Met、E-cadherin、N-cadherin、FN、Snail、 $\beta$ -Actin, 一抗均以 1:1 000 比例稀释, 4℃ 孵育过夜. 经 PBST 洗涤后, 加入 HRP 标记的特异性二抗以 1:5 000 比例稀释, 室温下孵育 2 h, 最后用 ECL 化学发光试剂对 X 光片显影, 扫描图片.

### 1.8 统计学方法

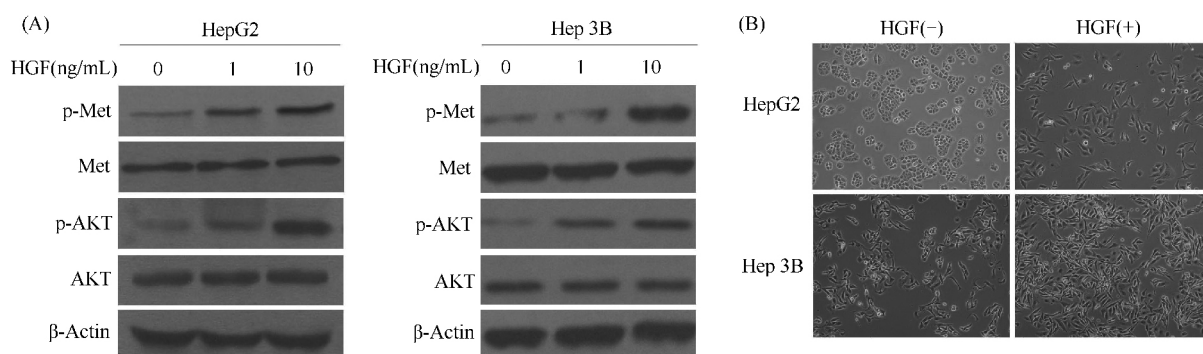
每组实验重复 3 次, 应用软件 GraphPad Prism 5.0 进行统计学分析, 组间比较用 One-way analysis of variance (单因素方差分析),  $P < 0.05$  表示有统计学差异.

## 2 结果

### 2.1 HGF 诱导对肝癌细胞 Met 信号及细胞形态的影响

HGF 处理 48 h 后, Western 印迹分别检测 HepG2 和 Hep 3B 细胞 Met、AKT 磷酸化及蛋白质表达的变化. 结果发现, HGF 处理对 Met、AKT 的蛋白质表达没有明显的影响, 但呈浓度依赖地增加 Met、AKT 的磷酸化水平, 说明 HGF 能够激活肝癌 HepG2 和 Hep 3B 细胞的 Met 信号 (Fig. 1A). 形态观察发现, 正常对照组细胞呈多角形“铺路石样”, 细胞之间连接紧密. HGF 处理条件下的肝癌细胞 HepG2 和 Hep 3B 细胞呈梭形“间质细胞样”, 散在生长 (Fig. 1B).

### 2.2 HGF 诱导对肝癌细胞迁移能力的影响

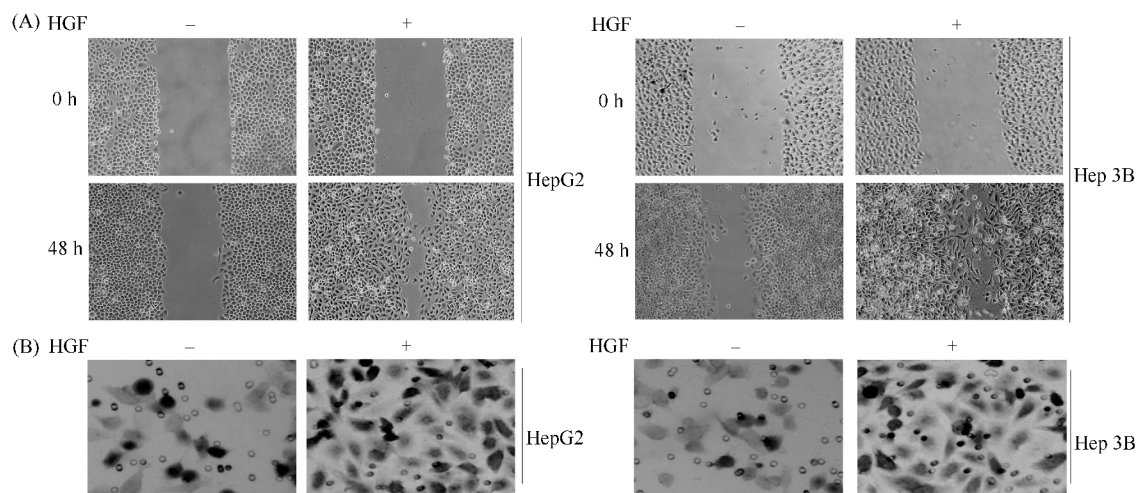


**Fig. 1 HGF stimulated the Met signaling pathway and induced morphologic changes in HepG2 and Hep 3B cells** (A)

Western blot analyzed the phosphorylation levels of Met and AKT in HepG2 and Hep 3B cells. The two human hepatocellular carcinoma cells were treated with HGF at 0, 1, and 10 ng/mL. Western blotting was performed after 48 hours.  $\beta$ -Actin was used as loading control. (B) Phase contrast images of two human hepatocellular carcinoma cells treated with or without HGF (10 ng/mL) for 72 hours

采用细胞划痕试验和 Transwell 试验检测肝癌细胞 HepG2 和 Hep 3B 的迁移能力。10 ng/mL HGF 处理 48 h 后, HepG2 和 Hep 3B 细胞的处理组细胞中间的划痕间隙比对照组明显变窄 (Fig. 2A)。

Transwell 试验结果显示, HGF 处理组的两种细胞穿过 Transwell 小室的数量均比对照组显著性增多 (Fig. 2B)。结果说明 HGF 诱导能增强肝癌细胞 HepG2 和 Hep 3B 的迁移能力。

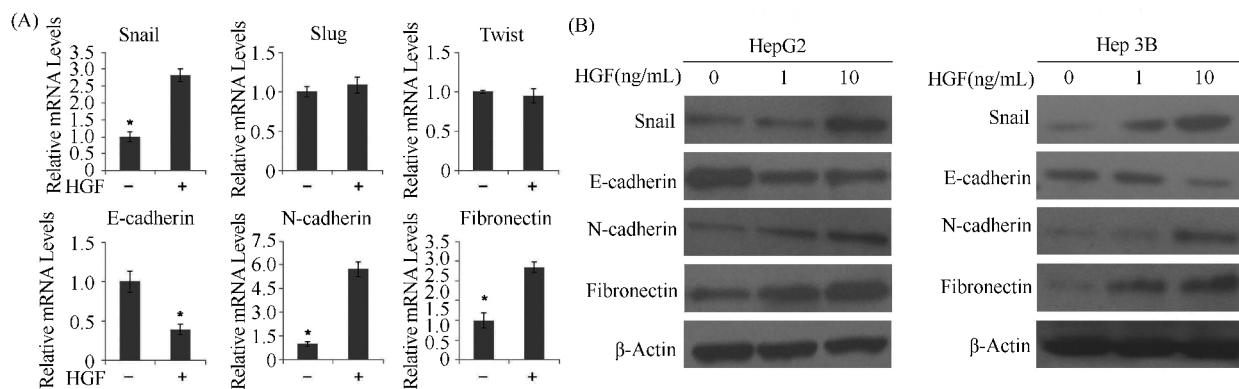


**Fig. 2 The effect of HGF on the migration of HepG2 and Hep 3B cells** (A) After HGF (10 ng/mL) treated the HepG2 and Hep 3B cells for 48 hours, wound healing assay analyzed the effect of HGF on the migration of two human hepatocellular carcinoma cells. (B) After HGF (10 ng/mL) treated the HepG2 and Hep 3B cells for 48 hours, transwell assay analyzed the effect of HGF on the migration of two human hepatocellular carcinoma cells

### 2.3 HGF 诱导对肝癌细胞 EMT 相关标志物表达的影响

HGF 分别处理 HepG2 和 Hep 3B 细胞 72 h 后, 分别提取细胞总 RNA 和蛋白质, real-time RT-PCR 和 Western 印迹检测细胞内上皮型蛋白标志物 E-cadherin、间质型蛋白标志物 Vimentin、N-cadherin 和 Fibronectin, 以及 EMT 相关转录因子 Snail、Slug 和

Twist 的表达变化。Fig. 3A 显示, HGF 显著抑制 E-cadherin mRNA 表达, 促进 Vimentin、N-cadherin 及 Fibronectin mRNA 表达 ( $P < 0.05$ )。Fig. 3B 显示, HGF 显著抑制 E-cadherin 蛋白表达, 促进 Vimentin、N-cadherin 及 Fibronectin 蛋白表达。此外, HGF 能够上调 Snail 的表达 ( $P < 0.05$ ), 但是对 Slug 和 Twist 的 mRNA 和蛋白质表达没有明显影响。

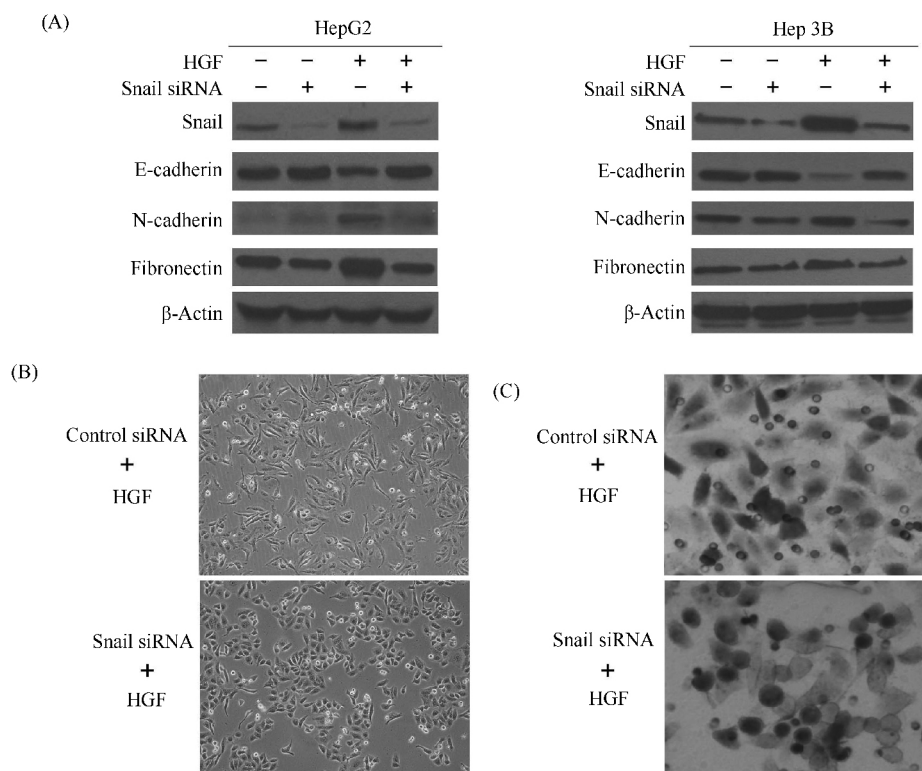


**Fig. 3 The change of EMT markers expression in HepG2 and Hep 3B cells induced by HGF** (A) mRNA expression of EMT markers in HepG2 and Hep 3B cells. The two human hepatocellular carcinoma cells were treated with or without HGF (10 ng/mL) for 72 hours. Real-time PCR displayed the expression of EMT markers. Data present mean  $\pm$  SD ( $n = 3$ ). GAPDH was used as internal control. (\*  $P < 0.05$ ) (B) Western blotting for detecting EMT markers in HepG2 and Hep 3B cells. The two human hepatocellular carcinoma cells were treated with HGF (0, 1, 10 ng/mL). Western blotting was performed after 72 hours.  $\beta$ -Actin was used as loading control

## 2.4 Snail 在 HGF 诱导肝癌细胞 EMT 发生中的作用

为了进一步探究 Snail 在 HGF 诱导肝癌 HepG2 和 Hep 3B 细胞 EMT 发生中的作用,采用 RNA 干扰技术干扰细胞内 Snail 表达,再进行 HGF 处理.结果发现,干扰 Snail 能明显逆转 HGF 对 HepG2 和 Hep 3B 细胞上皮型蛋白标志物 E-cadherin 的抑制作用,

以及对间质型蛋白标志物 N-cadherin、Fibronectin 诱导作用( Fig. 4A).形态观察发现,干扰 Snail 能够逆转 HGF 引起的 EMT 样形态变化( Fig. 4B).Transwell 结果( Fig. 4C)发现,干扰 Snail 能够降低 HGF 所诱导细胞的侵袭能力.结果说明 Snail 是 HGF 敏感型转录因子,且 Snail 在 HGF 诱导 HepG2 细胞 EMT 发生过程中起重要的作用.



**Fig. 4 The mechanism of HGF-induced EMT in HepG2 and Hep 3B cells** (A) The two human hepatocellular carcinoma cells were transfected with Snail siRNA. After transfection for 24 hours, the two human hepatocellular carcinoma cells were treated with 10 ng/mL HGF. Western blotting was performed after 48 hours. β-Actin was used as loading control (B) After Snail siRNA was transfected for 24 hours, the HepG2 and Hep 3B cells were treated with 10 ng/mL HGF. Phase contrast images of two human hepatocellular carcinoma cells showed the results. (C) After Snail siRNA was transfected for 24 hours, the HepG2 and Hep 3B cells were treated with 10 ng/mL HGF. Transwell assay analyzed the effect of HGF-induced cells transfected with Snail siRNA in two human hepatocellular carcinoma cells

## 3 讨论

原发性肝癌是全球第 5 位的癌症和第 3 位最常见引起死亡的癌症,全球每年有 60 万人罹患肝癌,其中一半以上在中国<sup>[14,15]</sup>.目前,肝癌治疗方法中仍首选以手术为主的综合治疗,但即便为具备肝切除指征的患者实施了所谓的根治性切除,仍然有一半以上的患者出现术后的复发和转移<sup>[16]</sup>.EMT 是上皮细胞与周围间质相互作用过程中逐渐获得某些间质细胞特有表型,目前被认为是肿瘤转移的关键

启动步骤,参与包括肝癌在内的多种肿瘤的侵袭、转移过程<sup>[17]</sup>.近年来,在肿瘤发生发展及某些纤维化疾病的过程中,HGF 作为 EMT 的主要诱导剂备受关注<sup>[18-20]</sup>.我们发现,未处理的肝癌 HepG2 和 Hep 3B 细胞呈典型的上皮细胞形态,经 HGF 处理后大部分细胞形态向长梭形“间质细胞样”转变,细胞间连接也变得疏松,散在分布,同时细胞的迁移能力明显增强.进一步检测 EMT 相关标志物表达分析,发现 HGF 处理的 HepG2 和 Hep 3B 细胞上皮型标志蛋白 E-cadherin 显著下降,间质型标志蛋白 N-

cadherin 和 Fibronectin 显著增加,从而导致 HepG2 和 Hep 3B 细胞渐渐失去了上皮细胞的特性和功能.以上结果说明,肝癌 HepG2 和 Hep 3B 细胞经过 HGF 诱导后确实发生了 EMT 转化.

肿瘤 EMT 发生主要受一类转录抑制因子超家族成员所调控,其中 Snail 是肿瘤 EMT 发生的一个重要的调节者<sup>[21]</sup>. Snail 是一种锌指 DNA 结合蛋白<sup>[22]</sup>,主要通过与其上游 E-cadherin 启动子区的 E-box 连接基序结合,抑制 E-cadherin 的转录表达,诱导 EMT 的发生.众多研究表明,Snail 在肿瘤组织中被异常活化,与肿瘤患者的预后直接相关<sup>[23]</sup>.它通过调控肿瘤细胞发生 EMT 的改变从而赋予肿瘤细胞移动和侵袭的能力<sup>[24,25]</sup>.我们发现,HGF 处理显著促进 Snail 的 mRNA 和蛋白质的表达,而干扰 Snail 转录因子则逆转 HGF 对 HepG2 和 Hep 3B 细胞 EMT 的诱导作用,说明 Snail 转录因子是 HGF 诱导 HepG2 和 Hep 3B 细胞 EMT 发生的关键分子.

总之,我们研究发现,HGF 可能通过诱导 Snail 的表达促进肝癌 HepG2 和 Hep 3B 细胞 EMT 的发生以及增强细胞浸润和转移能力,为靶向抑制肝癌 EMT 发生和转移提供重要的理论基础.

## 参考文献(References)

- [1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, *et al.* Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 [J]. *Int J Cancer*, 2010, **127**(12): 2893-2917
- [2] Jemal A, Murray T, Samuels A, *et al.* Global cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, **61**(2): 69-90
- [3] Altekruse SF, McGlynn KA, Dickie LA, *et al.* Hepatocellular carcinoma: epidemiology, treatment, and survival in surveillance, epidemiology, and end results registries, 1992-2008 [J]. *Hepatology*, 2012, **55**(2): 476-482
- [4] Kaartinen V, Voncken JW, Shuler C, *et al.* Abnormal lung development and cleft palate in mice lacking TGF- $\beta$ 3 indicates defects of epithelial-mesenchymal interaction [J]. *Nat Genet*, 1995, **11**(4): 415-421
- [5] Khoury H, Dankort DL, Sadkova S, *et al.* Distinct tyrosine autophosphorylation sites mediate induction of epithelial mesenchymal like transition by an activated ErbB-2/Neu receptor [J]. *Oncogene*, 2001, **20**(7): 788-799
- [6] Goyal L, Muzumdar MD, Zhu AX. Targeting the HGF/c-MET pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, **19**(9): 2310-2318
- [7] 蔡超,侯玲玲,胡红刚.肝细胞生长因子抑制剂——NK4 的抗肿瘤作用[J].中国生物化学与分子生物学报(Cai C, Hou L L, Hu H G. NK4 with Anti-tumor Activity: A Competitive Antagonist against HGF[J]. *Chin J Biochem Mol Biol*), 2014, **30**(11): 1069-1076
- [8] Ogunwobi OO, Puszyk W, Dong HJ, *et al.* Epigenetic upregulation of HGF and c-Met drives metastasis in hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(5): e63765
- [9] Gentile A, Trusolino L, Comoglio PM. The Met tyrosine kinase receptor in development and cancer [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2008, **27**(1): 85-94
- [10] Trusolino L, Bertotti A, Comoglio PM. MET signalling: principles and functions in development, organ regeneration and cancer [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, **11**(12): 834-848
- [11] Yang H, Magilnick N, Nouredin M, *et al.* Effect of hepatocyte growth factor on methionine adenosyltransferase genes and growth is cell density-dependent in HepG2 cells [J]. *J Cell Physiol*, 2007, **210**(3): 766-773
- [12] 胡惠军,陈新来,潘勇权,等.姜黄素对肝细胞生长因子诱导的前列腺癌细胞上皮细胞间质化的逆转作用[J].现代肿瘤医学(Hu H J, Chen X L, Pan Y Q, *et al.* Effect of Curcumin on epithelial-mesenchymal transition of prostate cancer cell induced by HGF[J]. *J Mod Oncol*), 2013, **21**(7): 1425-1429
- [13] Ogunwobi OO, Liu C. Hepatocyte growth factor upregulation promotes carcinogenesis and epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma via Akt and COX-2 pathways [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2011, **28**(8): 721-731
- [14] Farazi PA, DePinho RA. Hepatocellular carcinoma pathogenesis: from genes to environment [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, **6**(9): 674-687
- [15] Mathurin P, Rixe O, Carbonell N, *et al.* Review article: overview of medical treatments in unresectable hepatocellular carcinoma—an impossible meta-analysis [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 1998, **12**(2): 111-126
- [16] Du R, Wu S, Lv X, *et al.* Overexpression of brachyury contributes to tumor metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2014, **33**(1): 105
- [17] Książkiewicz M, Markiewicz A, Zaczek AJ. Epithelial-mesenchymal transition: a hallmark in metastasis formation linking circulating tumor cells and cancer stem cells [J]. *Pathobiology*, 2012, **79**(4): 195-208
- [18] Yu MA, Shin KS, Kim JH, *et al.* HGF and BMP-7 ameliorate high glucose-induced epithelial-to-mesenchymal transition of peritoneal mesothelium [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, **20**(3): 567-581
- [19] Nagai T, Arao T, Furuta K, *et al.* Sorafenib inhibits the hepatocyte growth factor-mediated epithelial mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2011, **10**(1): 169-177
- [20] Peinado H, Olmeda D, Cano A. Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype [J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, **7**(6): 415-428
- [21] Shin NR, Jeong EH, Choi CI, *et al.* Overexpression of Snail is associated with lymph node metastasis and poor prognosis in patients with gastric cancer [J]. *BMC Cancer*, 2012, **12**: 521

- [22] Wang Y, Shi J, Chai K, *et al.* The role of Snail in EMT and tumorigene[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2013, **13**(9):963-972
- [23] Emadi Baygi M, Soheili ZS, Schmitz I, *et al.* Snail regulates cell survival and inhibits cellular senescence in human metastatic prostate cancer cell lines[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2010, **26**(6): 553-567
- [24] Becker KF, Rosivatz E, Blechschmidt K, *et al.* Analysis of the E-cadherin repressor Snail in primary human cancers[J]. *Cells Tissues Organs*, 2007, **185**(1-3): 204-212
- [25] Kaufhold S, Bonavida B. Central role of Snail1 in the regulation of EMT and resistance in cancer: a target for therapeutic intervention[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2014, **33**: 62

(上接第 702 页)

英文推荐信是中科院上海生化所我的导师沈昭文研究员写的,没有费任何周折。但办理成绩单时,就很不顺利,因为那时我的本科母校华东师大很少办理这样的成绩单。北京大学的顾孝诚老师或她的团队成员(如叶宁)往往都会亲赴广州帮助同学细心地填写申请表格等。学生是否录取完全由美国学校决定。我被三所大学录取了,最后选择了位于休斯敦的贝勒医学院(Baylor College of Medicine)的生物化学系。但也会有少数同学未能被任何大学录取,这时北京大学的顾孝诚就会安排他们开始第二轮的申请,如果错过了申请的截止时间,个别学生可能要等下一年才能再申请了。

### 通过 CUSBEA 项目赴美攻读生物学博士学位的 422 位学生

1982-1989 年的 8 年间,总共有 422 位的学者通过 CUSBEA 项目赴美留学。各届学生的名单和被录取学校信息如下表格所示:(注:各届学生名单由吴瑞基金会吴艳博士根据保存和搜集的历史资料整理而成;部分信息还不完整也不一定准确,希望以后能继续修订)

表 2 各届学生名单及录取学校信息列表  
第一届 CUSBEA 学生名单(58 人,1982 年派出)

姓名	录取学校
曹新民	Tulane University
罗明	Purdue University
范学东	Albert Einstein College of Medicine
徐明	University of Texas Health Science Center at Dallas
蔺新力	Virginia Polytechnic Institute and State University
徐燕(女)	Iowa State University
赵海青	Conneticut University
王跃	University of Minnesota
沈纯	University of Huston
管俊林	University of California, San Diego
李文倬(女)	University of Rochester Medical Center
傅新元	Columbia University
蔡维忠	Pennsylvania State University
严聪	University of California, San Diego
付向东	Case Western Reserve Univ.
杨柳	University of California, San Diego
颜宁	Cornell University Medical College
单林	The University of Utah
庞慎	Albert Einstein college of Medicine
陈龙音	Indiana University
林尔申	Cornell University
胡兰	Pennsylvania State University
张放(女)	Dartmouth Medical School

(下转第 733 页)