DOI:10.16016/j.1000-5404.201607078

西奥骨化醇抑制 TGF-β1 诱导的肝癌细胞 SMMC-7721 上皮-间质转化

曹令平,涂利宽,吴小翎 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院消化内科)

[摘要] **目的** 研究西奥骨化醇(seocalcitol,EB1089)对 TGF-β1 诱导肝癌细胞 SMMC-7721 上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transitions,EMT)的抑制作用。**方法** 用不同浓度维生素 D 类似物 EB1089(1、10、100、1 000 nmol/L)作用于肝癌细胞 SMMC-7721 6、12、24、48 h,筛选出具有统计学意义的作用浓度和时间。将肝癌细胞 SMMC-7721 分为 4 组(EB1089 组、TGF-β1 组、EB1089 + TGF-β1 组和空白对照组),分别干预 48 h。用相差倒置显微镜观察细胞形态变化;通过实时 RT-PCR 和 Western blot 分别检测 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 的 mRNA 和蛋白表达情况;迁移实验和侵袭实验检测 EB1089 对肝癌细胞 SMMC-7721 侵袭和迁移能力的影响。**结果** TGF-β1 作用后肝癌细胞 SMMC-7721 呈现长梭形,并伸出较多触角,EB1089 能明显改善这种形态变化;EB1089 可有效升高 TGF-β1 所致的 E-cadherin mRNA 和蛋白低表达($P<0.05$),同时降低 N-cadherin、Vimentin mRNA 和蛋白表达($P<0.05$);EB1089 对 TGF-β1 诱导的细胞侵袭、迁移具有抑制作用($P<0.05$)。**结论** 维生素 D 类似物 EB1089 能有效抑制 TGF-β1 诱导的肝癌细胞 SMMC-7721 上皮-间质转化现象和侵袭、迁移能力。

[关键词] EB1089;上皮-间质转化;转化生长因子 β1;肝癌
[中图法分类号] R730.23; R735.7; R977.24 [文献标志码] A

Seocalcitol inhibits transforming growth factor-β1-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatoma carcinoma SMMC-7721 cells

Cao Lingping, Tu Likuan, Wu Xiaoling (Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the inhibitory effect of seocalcitol (EB1089) on transforming growth factor-β1 (TGF-β1)-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) in the hepatoma carcinoma cell line SMMC-7721. **Methods** Vitamin D analog EB1089 at different concentrations (1, 10, 100 and 1 000 nmol/L) was used to treat the SMMC-7721 cells for different times (6, 12, 24 and 48 h) to determine the optimal dose and time. Then the SMMC-7721 cells were divided into control group, TGF-β1 group, EB1089 with or without TGF-β1 groups. Cell morphology was observed with phase-contrast microscopy. RT-PCR and Western blotting were employed to measure the expression of E-cadherin, N-caherin and Vimentin at mRNA and protein levels. Cell invasion and migration were evaluated by Transwell chamber assay. **Results** Compared with control cells, TGF-β1 stimulated cells developed an obvious long fusiform shape. Such morphological changes were prevented by the addition of EB1089. Meanwhile, EB1089 enhanced the protein and mRNA expression of E-cadherin suppressed by TGF-β1 ($P<0.05$), decreased the levels of N-caherin and Vimentin ($P<0.05$), and inhibited TGF-β1-induced invasiveness and migration in the SMMC-7721 cells. **Conclusion** Vitamin D analog EB1089 inhibits TGF-β1-induced EMT, and invasion and migration in the hepatoma carcinoma SMMC-7721 cells.

[**Key words**] EB1089; epithelial-mesenchymal transition; transforming growth factor -β1; hepatic carcinoma

Corresponding author: Wu Xiaoling, E-mail: wuxiaoling@cqmu.edu.cn

[通信作者] 吴小翎,E-mail:wuxiaoling@cqmu.edu.cn

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20161021.1700.031.html

肝癌是全世界最常见的恶性肿瘤之一,在肿瘤相关性死亡中位居第3位[1]。目前肝癌治疗是以手术为主的综合治疗模式,但很多患者就诊时已失去手术机会,且术后复发率较高。肿瘤细胞的侵袭转移是导致这一结果的重要原因[2]。目前有研究认为,上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transitions,EMT)能促进肝癌的侵袭和转移[3],因此抑制EMT现象成为抑制肿瘤侵袭转移的新途径。维生素D_3是一种类固醇类化合物,不仅调节钙磷代谢,而且其具有抑制EMT的作用[4]。EB1089作为一种最新研制的维生素D类似物,在诱导肿瘤细胞凋亡和抑制肿瘤细胞增殖方面有着明显效果[5-6],同时与一些抗肿瘤药物具有协同作用,加强抗肿瘤效果[7],有重要的临床应用前景。本研究旨在探讨EB1089对TGF-β1诱导肝癌细胞SMMC-7721上皮-间质转化现象的影响,进一步寻找抑制肿瘤侵袭转移的新途径。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝癌细胞株SMMC-7721由重庆医科大学生命科学研究院实验室提供;新鲜胎牛血清、DMEM高糖培养基、青霉素/链霉素溶液均购自美国HyClone公司;兔抗人E-cadherin多克隆抗体和兔抗人N-cadherin多克隆抗体,鼠抗人Vimentin单克隆抗体,辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG及山羊抗鼠IgG二抗均购自Immunoway公司;鼠抗人GAPDH单克隆抗体(内参)购自碧云天生物技术研究所;引物由宝生物工程(大连)有限公司合成,反转录试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司;蛋白质印迹及蛋白质提取相关试剂购自碧云天生物技术研究所;EB1089购自Tocris生物公司,TGF-β1购自PeproTech公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养肝癌细胞SMMC-7721 用含10%胎牛血清的DMEM培养液进行培养,用对数生长期的细胞制成单细胞悬液,以1×10^5个细胞/瓶的密度接种于细胞培养瓶中。当细胞密度为30%~40%时,更换培养液为含1%血清的DMEM培养液继续培养24 h。对照组细胞加入含0.1%乙醇(纯度100%)培养基,目的组细胞分别加入含不同浓度EB1089(1、10、100、1 000 nmol/L)的培养基培养不同时间(6、12、24、48 h),筛选出EB1089作用于肝癌细胞SMMC-7721后上皮标志物E-cadherin表达水平变化显著的浓度和时间。然后将细胞分为4个组,其中3组分别加入含10 ng/mL TGF-β1、1 000 nmol/L EB1089、1 000 nmol/L EB1089+10 ng/mL TGF-β1的5% DMEM培养液,空白对照组加入含0.1%乙醇的5% DMEM培养液,作用48 h。

1.2.2 RT-PCR TRIzol法提取细胞总RNA,按反转录试剂盒提供的实验步骤反转录为cDNA,随后行实时荧光定量PCR检测E-cadherin、N-cadherin、Vimentin的表达。E-cadherin基因上游引物序列为5′-CCAAAGCCTCAGGTCATAAACAT -3′,下游引物序列为5′-TGAGATTGATTTTGTAGTCACCCAC -3′;N-cadherin基因上游引物序列为5′-CCATCAAGCCTGTGGGAATC -3′,下游引物序列为5′-GCCGCTTTAAGGCCCTCAT -3′;Vimentin基因上游引物序列为5′-TCTGGATTCACTCCCTCTGGTT -3′,下游引物序列为5′-ATCGTGATGCTGAGAAGTTTCGT -3′;内参照GAPDH基因的上游引物序列为5′-CTTTGGTATCGTGGAAGGACTC -3′,下游引物序列为5′-GTAGAGGCAGGGATGATGTTCT -3′。扩增条件:第1步95 ℃ 1 min;第2步95 ℃ 10 s、60 ℃ 30 s、65 ℃ 5 s,共39个循环;最后75 ℃延伸7 min。采用CFX96Real-time System软件,定量分析目的基因E-cadherin、N-cadherin、Vimentin及内参照GAPDH的Ct值。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因的相对表达量并进行统计学分析。实验重复3次。

1.2.3 Western blot 不同组细胞处理一定时间后,分别提取各组细胞总蛋白,用BCA法测定蛋白浓度后,各取30 μg蛋白行10% SDS-PAGE分离蛋白,并转移至聚偏二氟乙烯膜上,室温条件下在摇床上用封闭液封闭处理1.5 h,加入兔抗人E-cadherin、N-cadherin多克隆抗体(体积稀释比例为1∶1 000)、Vimentin单克隆抗体(体积稀释比例为1∶1 000)和内参鼠抗人GAPDH单克隆抗体(体积稀释比例为1∶1 000),4 ℃反应过夜,用PBST洗膜3次后,加入二抗[辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG或山羊抗鼠IgG(体积稀释比例为1∶8 000)],37 ℃反应1 h,用PBST洗膜3次后,曝光成像。用Quantity one软件分析E-cadherin、N-cadherin、Vimentin和GAPDH蛋白条带的灰度值,以E-cadherin、N-cadherin、Vimentin蛋白和GAPDH蛋白灰度值的比值表示E-cadherin、N-cadherin、Vimentin蛋

白的相对表达量并进行统计分析。实验重复3次。

1.2.4 细胞形态学观察 将SMMC-7721细胞分别以1×10^5/孔接种于6孔板,培养24 h之后更换为含1%血清的DMEM培养液进行饥饿化处理约24 h。再将细胞分为4组并培养48 h(同上)。于图1每组细胞的形态并拍照,每组拍摄不低于4张照片。实验重复3次。

1.2.5 细胞Transwell小室侵袭迁移实验 Transwell小室迁移实验时,将4个不同处理组的SMMC-7721细胞消化离心,并用无血清培养基吹打均匀;将不同组含约1×10^5个细胞的200μL无血清培养基的细胞悬液分别接种于24孔板中不同小室的上室,小室膜的直径为8.0 μm,下室加入600 μL含10% DMEM的高糖培养基,放入37 ℃、5% CO_2的培养箱中继续培养约24 h,将不同组的小室用4%多聚甲醛固定30 min,之后用0.1%结晶紫染色15 min,用双蒸水洗3次,显微镜下成像,随机选5个视野进行拍照。Transwell小室侵袭实验步骤基本同前,但加入细胞悬液前,将基质胶按1∶8的比例稀释后加入小室,放入培养箱中48 h。实验重复3次。

1.3 统计学方法

应用SPSS 17.0统计软件进行数据统计分析,用GraphPad Prism 5软件制图。实验数据以$\bar{x}\pm s$表示,两独立样本间的比较采用t检验,多组之间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD检验。检验水准为$\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 EB1089作用浓度和时间的筛选

1、10、100、1 000 nmol/L EB1089作用于SMMC-7721细胞6、12、24、48 h,同时设置对照组,Western blot检测E-cadherin蛋白表达水平。结果表明当EB1089的浓度为1 000 nmo/L,作用时间为48 h时,SMMC-7721细胞E-cadherin蛋白表达相对于对照组差异最为显著($P<0.05$,$P<0.01$,图1),故选择EB1089浓度为1 000 nmol/L,作用时间为48 h用于后续实验。

2.2 TGF-β1、EB1089引起SMMC-7721细胞形态的改变

TGF-β1组SMMC-7721细胞形态由原来的不规则多边形变为长梭形,并伸出较多触角,与其他3组差别较大。与空白对照组相比,EB1089组SMMC-7721细胞形态变化不明显。与TGF-β1组相比,EB1089+TGFβ1组SMMC-7721细胞长梭形变化不明显,且触角减少(图2)。

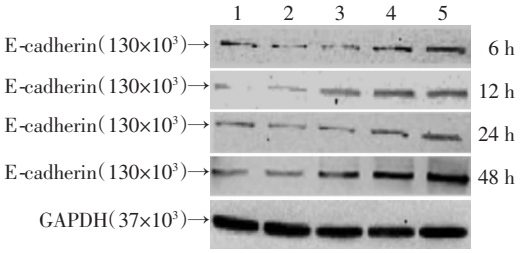
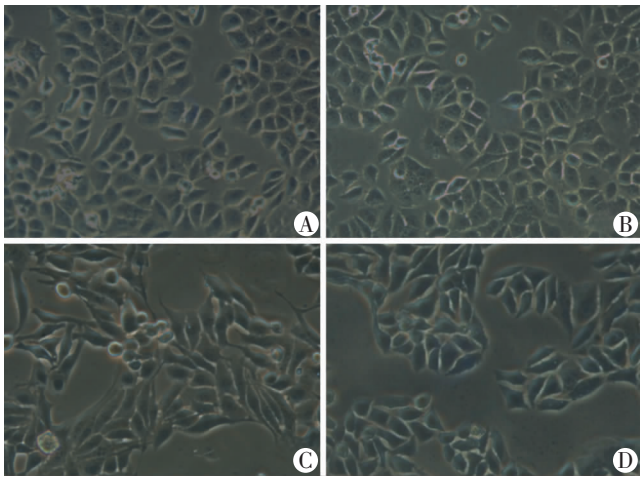


图1 Western blot检测不同浓度的EB1089作用于肝癌细胞SMMC-7721不同时间E-cadherin蛋白水平的变化

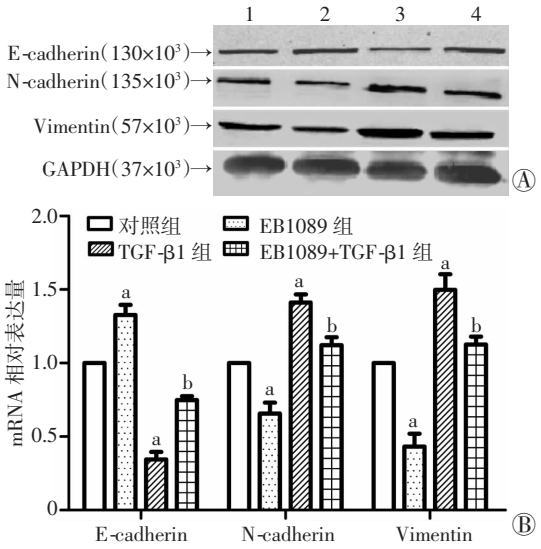


A:对照组;B:EB1089组;C:TGF-β1组;D:EB1089+TGF-β1组

图2 相差倒置显微镜观察不同处理组肝癌细胞SMMC-7721形态变化 (×200)

2.3 EB1089作用SMMC-7721细胞后相关标志物的mRNA与蛋白表达

Western blot和实时荧光定量PCR实验检测4组细胞。结果显示,与空白对照组相比,TGF-β1诱导48 h后,间质细胞标志物N-cadherin和Vimentin的mRNA和蛋白表达明显增加($P<0.05$),上皮细胞标志物E-cadherin的mRNA和蛋白表达明显降低($P<0.05$);EB1089组E-cadherin的mRNA和蛋白表达增加,N-cadherin和Vimentin的mRNA和蛋白表达下降($P<0.05$,图3A)。与TGF-β1组相比,EB1089+TGF-β1组N-cadherin和Vimentin的mRNA和蛋白表达明显下降,E-cadherin的mRNA和蛋白表达明显回升($P<0.05$),但与对照组相比,EB1089+TGF-β1组N-caherin和Vimentin的mRNA和蛋白表达增加,E-cadherin的mRNA和蛋白表达明显减少($P<0.05$,图3B)。

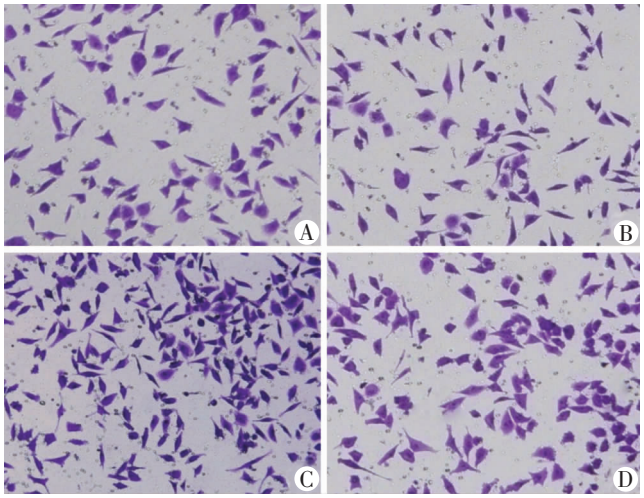


1:对照组;2: EB1089 组;3: TGF-β1 组;4: EB1089 + TGF-β1 组 A:Western blot 检测结果;B:实时荧光定量 PCR 检测结果　a:$P<0.05$,与对照组比较, b:$P<0.05$,与 TGF-β1 组比较

图 3　不同处理组 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 蛋白和 mRNA 表达情况

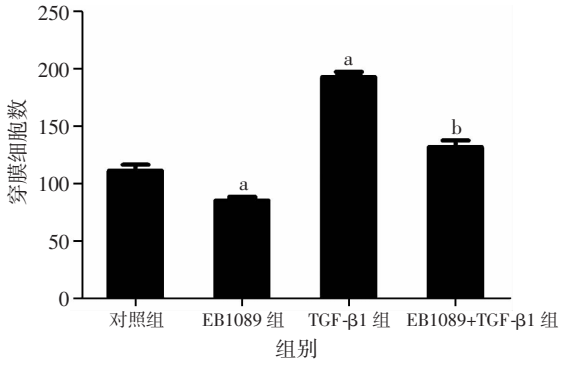
2.4　EB1089 对 TGF-β1 诱导 SMMC-7721 细胞侵袭和迁移能力的影响

Transwell 小室侵袭、迁移实验检测 4 组细胞侵袭、迁移能力。结果显示,与空白对照组相比,TGF-β1 组 SMMC-7721 细胞穿膜细胞数明显增加($P<0.05$),而 EB1089 组穿膜细胞数明显减少($P<0.05$)。与 TGF-β1 组相比,EB1089 + TGF-β1 组穿膜细胞数明显减少($P<0.05$,图 4 ~ 7)。



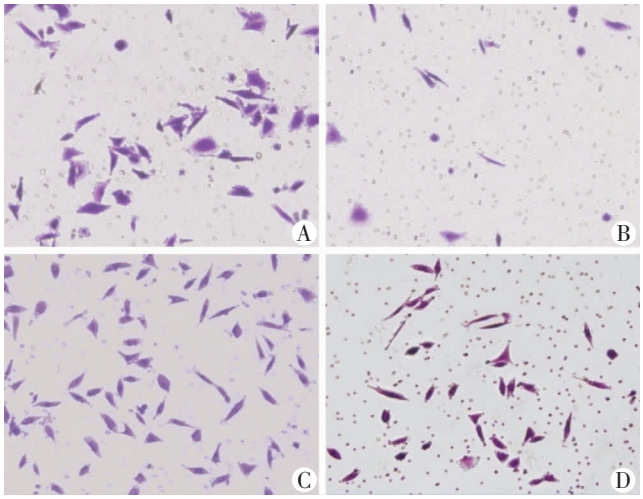
A:对照组;B EB1089 组;C: TGF-β1 组;D: EB1089 + TGF-β1 组

图 4　显微镜观察 EB1089 对 SMMC-7721 细胞迁移能力的影响　(结晶紫 ×100)



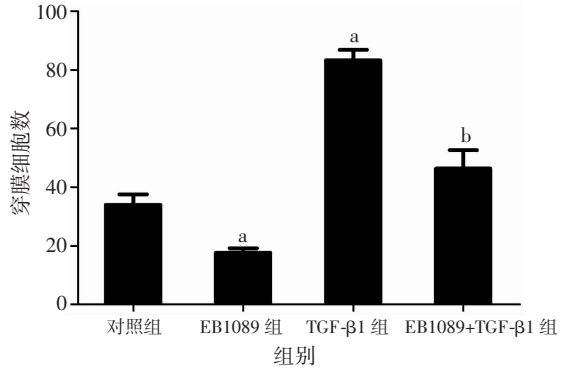
a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与 TGF-β1 组比较

图 5　Transwell 检测 EB1089 对 SMMC-7721 细胞迁移能力的影响



A:对照组;B: EB1089 组;C: TGF-β1 组;D: EB1089 + TGF-β1 组

图 6　显微镜观察 EB1089 对 SMMC-7721 细胞侵袭能力的影响　(结晶紫 ×100)



a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与 TGF-β1 组比较

图 7　Transwell 检测 EB1089 对 SMMC-7721 细胞侵袭能力的影响

3　讨论

EMT 是在特定的生理和病理情况下,上皮细胞向

间充质细胞分化的现象。E-cadherin 是上皮细胞的一种标志性蛋白,在维持组织形态、细胞极性、细胞间连接方面起着关键作用。E-cadherin 低表达与肿瘤细胞侵袭性增加和不良预后有关[8]。N-cadherin 和 Vimentin 为间质细胞特征性蛋白,表达上调与上皮性肿瘤细胞转移性增强有关[9-10]。在 EMT 发生过程中,E-cadherin 表达下调、N-cadherin 和 Vimentin 表现为上调趋势。EMT 的发生可受环境刺激和众多调节因子的影响,其机制相当复杂。TGF-β1 是一个重要促 EMT 因子,已有研究表明在体外培养的肝癌细胞系、原代肝细胞以及大鼠肝细胞,均能通过 TGF-β1 诱导出典型的 EMT 现象[11]。Xu 等[12]研究发现,10 ng/mL TGF-β1 作用于肝癌细胞 48 h 时,其诱导 EMT 效果最佳。本实验中,我们观察到 10 ng/mL TGF-β1 作用于肝癌细胞 SMMC-7721 48h 后,细胞形态由不规则多边形向长梭形的"间质样细胞"转变;Real-time PCR 和 Western blot 结果表明在 TGF-β1 作用下 E-cadherin 表达下调、N-cadherin 和 Vimentin 表达上调,这些变化均提示肝癌细胞 SMMC-7721 发生 EMT。

维生素 D 为固醇类衍生物,维持体内的钙、磷代谢平衡。近年有研究表明,维生素 D_3 能抑制 TGF-β1 诱导结肠癌细胞的 EMT 现象,减弱结肠癌细胞的侵袭、迁移能力[13]。同时,维生素 D_3 的类似物 MART-10 对胰腺癌、乳腺癌细胞 EMT 现象表现出比维生素 D_3 更强的抑制作用[14-15]。本实验中,我们观察到肝癌细胞 SMMC-7721 在 TGF-β1 作用下发生典型的 EMT 现象。但在加入 1000 nmol/L EB1089 干预 48 h 后,细胞形态向"间质样"转变的趋势明显减缓;同时,Real-time PCR 和 Western blot 结果提示上皮细胞标志物 E-cadherin 蛋白和 mRNA 表达与 TGF-β1 组比较明显上调,间质细胞标志物 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白和 mRNA 表达则明显下调,表明 1 000 nmol/L EB1089 对于 TGF-β1 诱导的肝癌细胞 SMMC-7721 发生 EMT 表现出抑制作用。EB1089 干预后肝癌细胞 SMMC-7721 侵袭、迁移能力的明显下降,亦恰好印证了这点。

EB1089 能减少机体 50% 钙代谢,同时,对多种肿瘤表现出生长抑制及促进分化的作用,是一种非常有潜力的抗肿瘤药物。目前相关研究多集中在其对细胞周期的调控、诱导细胞凋亡等方面,而其对肝癌细胞发生 EMT 的影响,尚少见相关报道。本研究中我们证实了 TGF-β1 能诱导肝癌细胞 SMMC-7721 发生 EMT 现象;同时,发现在 EB1089 的干预下,TGF-β1 诱导肝癌细胞 SMMC-7721 发生的 EMT 明显减弱,细胞侵袭、迁移能力也受到明显抑制,其具体机制尚不明确。目前大多观点认为 TGF-β 通过多种途径诱导肿瘤 EMT 发生,机制主要是通过 Smad 依赖通路和非 Smad 依赖通路完成。相关研究表明维生素 D 类似物帕立骨化醇通过抑制 TGF-β1 的 Smad 信号通路来抑制 EMT 现象[16]。Debra 等[17]的实验发现在慢性移植肾肾病中,维生素 D 的活性形式 1,25-$(OH)_2D_3$ 能通过下调 TGF-β1/Smad 的信号通路中 Smad2 的表达,上调 Smad7 的表达来减轻 TGF-β1 引起的纤维化。因此,我们认为在 TGF-β1 诱导 SMMC-7721 细胞 EMT 的 Smad 信号通路中可能存在 EB1089 的作用靶点。此外,TGF-β1 也可通过丝裂原活化的蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)途径激活下游的细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinase, Erk),从而诱导肿瘤 EMT 形成。文献[18]报道,维生素 D 可以下调表皮细胞生长因子受体的表达,通过抑制 MAPK 达到促进肿瘤细胞分化、凋亡并抑制其生长。EB1089 是否也对 TGF-β1 激活的 MAPK 途径产生影响,目前尚不明确。Wnt 通路也能与 TGF-β1/Smad 通路作用,上调 EMT 诱导因子 Snail 和 Twist,抑制 E-cadherin 的表达,同时激活了 β-catenin/TCF/LEF 复合物,间接导致 Vimentin 等间质标志物的表达,共同协调对肿瘤 EMT 的调节。EB1089 是否通过中间环节调节 EMT,目前少见相关报道。同时,调节肝癌细胞 SMMC-7721 中 TGF-β1 及其受体的表达,也可能是 EB1089 影响 TGF-β1 诱导的 EMT 现象的一种机制。总之,TGF-β1 诱导肝癌细胞 SMMC-7721 发生 EMT 是一个复杂的过程,EB1089 对该过程的影响也可能存在多种途径,其具体机制有待进一步研究。

参考文献:

[1] Forner A, Llovet J M, Bruix J, *et al*. Hepatocellular carcinoma[J]. Lancet, 2012, 379 (9822): 1245-1255. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61347-0

[2] Gupta G P, Massague J. Cancer metastasis: building a framework[J]. Cell, 2006, 127(4): 679-695. DOI: 10.1016/j.cell.2006.11.001

[3] 吴黎雳, 宦宏波, 温旭东, 等. 迷走神经递质 P 物质对人类肝癌细胞侵袭转移能力的影响及其分子机制[J]. 第三军医大学学报, 2015, 37(7): 643-648. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201410116

[4] Fischer K D, Agrawal D K. Vitamin D regulating TGF-β induced epithelial-mesenchymal transition[J]. Respiratory Research, 2014, 15(1): 146-157. DOI: 10.1186/s12931-

014-0146-6

[5] Wang W, Zhao C H, Zhang N, *et al*. Vitamin D Analog EB1089 Induces Apoptosis in a Subpopulation of SGC-7901 Gastric Cancer Cells Through a Mitochondrial- Dependent Apoptotic Pathway[J]. Nutrition and Cancer Letters, 2013, 65(7): 1067 – 1075. DOI: 10.1080/01635581. 2013.811273

[6] Ghous Z, Akhter J, Morris D L, *et al*. Inhibition of Hepatocellular Cancer by EB1089: *In Vitro* and *In Vivo* Study[J]. Anticancer Res, 2008, 28(6): 3757 – 3761.

[7] Segovia-Mendoza M, Diaz L, Gonzalez-Gonzalez M E. Calcitriol and its analogues enhance the antiproliferative activity of gefitinib in breast cancer cells[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2015, 148(11): 122. DOI: 10.1016/j. jsbmb. 2014.12.006

[8] Tsanou E, Peschos D, Batistatou A. The E-cadherin adhesion molecule and colorectal cancer. A global literature approach [J]. Anticancer Res, 2008, 28(6): 3815 – 3826.

[9] Derycke L D, Bracke M E. N-cadherin in the spotlight of cell-cell adhesion, differentiation, embryogenesis, invasion and signalling[J]. Int J Dev Biol, 2004, 48(6): 463 – 476. DOI: 10.1387/ijdb.041793ld

[10] Yoon W H, Song I S, Lee B H. Differential regulation of vimentin mRNA by 12-O-tetradecanoylphorb01 13-acetate and all-trans-retinoic acid correlates with motility of Hep 3B human hepatocellular carcinoma cells[J]. Cancer Letters, 2004, 203(1): 99 – 105.

[11] Yang Y, Pan X, Lei W, *et al*. Regulation of transforming growth factor-beta 1-induced apoptosis and epithelial-to-mesenchymal transition by protein kinase A and signal transducers and activators of transcription 3[J]. Cancer Res, 2006, 66(3): 8617 – 8624. DOI: 10.1158/0008-5472. CAN-06-1308

[12] Xu Z, Shen M X, Ma D Z, *et al*. TGF-β1 -promoted epithelial-to-mesenchymal transformation and cell adhesion contribute to TGF-β1 -enhanced cell migration in SMMC-7721 cells[J]. Cell Research, 2003, 13(5): 343 – 350. DOI: 10.1038/sj. cr. 7290179

[13] Chen S, Zhu J, Zuo S, *et al*. 1, 25(OH)2D3 attenuates TGF-β1/β2-induced increased migration and invasion *via* inhibiting epithelial-mesenchymal transition in colon cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 468(1): 130 – 135. DOI: 10.1016/j. bbrc. 2015.10. 146

[14] Chiang K C, Cheh S C, Yeh C N, *et al*. MART-10, a less calcemic vitamin D analog, is more potent than1 , 25-dihydroxyvitamin D3 in inhibiting the metastatic potentialof MCF-7 breast cancer cells *in vitro*[J]. Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology, 2014, 139(1): 54 – 60. DOI: 10.1016/j. jsbmb. 2013.10.005

[15] Chiang K C, Yeh C N, Hsu J T, *et al*. The vitamin D analog, MART-10, represses metastasis potential *via* downregulation of epithelial-mesenchymal transition in pancreatic[J]. Cancer Letters, 2014, 345(2): 235. DOI: 10.1016/j. canlet. 2014.08.019

[16] Tan X, Li Y, Liu Y. Paricalcitol attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17(12): 3382 – 3393. DOI: 10.1681/ASN. 2006050520

[17] Hullett D A, Laeseke P F, Malin G, *et al*. Prevention of chronic allograft nephropathy with vitamin D[J]. Transpl Int, 2005, 18(10): 1175 – 1186. DOI: 10.1111/j. 1432-2277.2005.00187. x

[18] Deeb K K, Trump D L, Johnson C S. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics [J]. Nat Rev Cancer. England, 2007, 7(9): 684 – 700. DOI: 10.1038/nrc2196

(收稿:2016-07-12;修回:2016-09-29)

(编辑 王 红)