DOI:10.16016/j.1000-5404.202001046

高迁移率族蛋白 A2 促进胃癌细胞侵袭转移及其可能机制

孙 伟[1],郝迎学[1],张荣杰[1],杨世伟[1],连继勤[2] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学):附属第一医院血管外科[1],基础医学部生物化学与分子生物学教研室[2]

[摘要] **目的** 观察高迁移率族蛋白 A2(high-mobility group protein A2,HMGA2)在胃癌组织中的表达及与临床病理特征和预后的关系,探讨 HMGA2 调控胃癌细胞侵袭和增殖的作用及机制。**方法** 利用 TCGA 数据库、GTEx 数据库及生物信息学分析工具(GEPIA、KM plotter)对 HMGA2 mRNA 在胃癌中的表达及患者生存时间进行分析。并利用免疫组化检测 HMGA2 蛋白在胃癌及癌旁组织的表达,分析 HMGA2 表达与胃癌临床病理学参数的相关性及对预后的影响。在 MGC-803 细胞中敲低 HMGA2,在 SGC-7901 细胞中过表达 HMGA2,并利用平板克隆实验、transwell 实验分别检测细胞增殖、侵袭能力的变化。在过表达 HMGA2 的细胞中敲低 Snail1,检测细胞侵袭能力变化,Western Blot 检测细胞中 HMGA2 及 EMT 标志物的表达变化。**结果** 生物信息学分析发现胃癌组织中 HMGA2 mRNA 表达相较于正常胃组织显著增加($P<0.05$)。免疫组化显示,与癌旁组织相比,胃癌组织中 HMGA2 蛋白表达量显著升高,且与 TNM 分期、淋巴结转移以及生存率等相关。HMGA2 高表达的胃癌患者,总生存期及无复发生存期明显缩短($P<0.05$)。敲低 HMGA2 后,MGC-803 细胞的增殖和侵袭能力降低($P<0.05$);过表达 HMGA2 后 SGC-7901 细胞的增殖和侵袭能力升高($P<0.05$)。在过表达 HMGA2 的 SGC-7901 细胞中,敲低 Snail1 表达,细胞侵袭能力明显降低($P<0.05$),且 E-cadherin 的表达升高,N-cadherin 和 Vimentin 的表达降低。**结论** HMGA2 高表达与胃癌患者的不良预后相关,其可能通过调控 Snail1 促进胃癌细胞侵袭转移。

[关键词] 胃癌;HMGA2;EMT;Snail1;生物信息学

[中图法分类号] R394.3; R730.23; R735.2 [文献标志码] A

Promotive effect and possible mechanism of high-mobility group protein A2 on invasion and metastasis of gastric cancer cells

SUN Wei[1], HAO Yingxue[1], ZHANG Rongjie[1], YANG Shiwei[1], LIAN Jiqin[2] [1]Department of Vascular Surgery, First Affiliated Hospital; [2]Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To detect the expression of high-mobility group protein A2 (HMGA2) in gastric cancer tissues, investigate its relationship with clinicopathological features and prognosis, and explore its role and underlying mechanism in regulating the invasion and proliferation of gastric cancer cells. **Methods** TCGA database, GTEx database and bioinformatics analysis tools (GEPIA, KM plotter) were used to analyze the expression of HMGA2 gene in gastric cancer and the survival time of patients. The expression of HMGA2 protein in gastric cancer and adjacent tissues was detected by immunohistochemistry, and the correlation between HMGA2 expression and the clinicopathological parameters and its effect on prognosis of gastric cancer patients were analyzed. After HMGA2 was knocked down in gastric cancer cell line MGC-803, and overexpressed in gastric cancer cell line SGC-7901, plate cloning and transwell assay were used to detect the proliferation and invasion ability, respectively. The invasion ability was detected again in the HMGA2 overexpressed SGC-7901 cells after knockdown of Snail1. Western blotting was employed to measure the expression changes of HMGA2 and epithelial to mesenchymal transition (EMT) markers in the cells.

[基金项目] 军事医学科技创新计划(SWH2017JCZD-07)

[通信作者] 郝迎学,E-mail: haoyingxue@hotmail.com

Results The bioinformatics analysis showed that the mRNA expression of HMGA2 was significantly increased in gastric cancer tissues compared with normal gastric tissues ($P<0.05$). Immunohistochemistry also indicated that the protein level of HMGA2 was obviously higher in gastric cancer tissues than para-cancer tissues, and it was associated with TNM staging, lymph node metastasis and survival rate. The gastric cancer patients with high HMGA2 expression had statistically shorter total survival and relapse-free survival ($P<0.05$). Knockdown of HMGA2 resulted in decreased proliferation and invasion ability in MGC-803 cells decreased ($P<0.05$), while its overexpression led to enhanced proliferation and invasion ability in SGC-7901 cells ($P<0.05$). However, knocking down Snail1 would cause the invasion of HMGA2-overexpressed SGC-7901 cells reduced ($P<0.05$), and the expression level of E-cadherin up-regulated and those of N-cadherin and Vimentin down-regulated. **Conclusion** High HMGA2 expression is associated with poor prognosis of gastric cancer patients, and it may promote invasion and metastasis of gastric cancer cells by regulating Snail1.

[**Key words**] gastric cancer; high-mobility group protein A2; epithelial to mesenchymal transition; Snail1; bioinformatics

Supported by the Innovation Plan of Military Medical Science and Technology (SWH2017JCZD-07). Corresponding author: HAO Yingxue, E-mail: haoyingxue@hotmail.com

胃癌是世界上常见的恶性肿瘤之一,也是导致癌症死亡的第三大病因[1]。随着现代医疗技术的发展,以及胃癌治疗策略的不断完善,胃癌的治疗取得了极大的进展[2]。但是胃癌的早期诊断及术后复发转移仍是影响胃癌患者生存率的重要因素。有效的早期诊断及预后标记物对于提高胃癌的预后具有重要的意义,可为胃癌的预防和治疗开辟新的途径。高迁移率族蛋白 A2(high-mobility group protein A2,HMGA2)是一种非组蛋白染色体蛋白,不具有内在的转录活性,通过改变染色质结构来调节靶基因的转录,因此它们被称为架构转录因子[3]。HMGA2 的过度表达与许多癌症的发生发展相关[4],研究表明,HMGA2 在肿瘤的发生、侵袭和转移过程中发挥着重要作用[5],但是其在胃癌中的具体生物学作用及分子机制尚不明确。本研究拟将生物信息学与免疫组化检测相结合,分析 HMGA2 在胃癌中的差异表达及其临床相关性,并通过体外实验探讨 HMGA2 调控胃癌增殖、侵袭的机制。

1 材料与方法

1.1 标本与临床信息

收集 2018 年 6~12 月于陆军军医大学第一附属医院治疗的胃癌组织标本 72 例,癌旁组织(距离肿瘤组织 2 cm 以上)标本 72 例作为对照。所有患者术前均未行放疗、化疗,且不合并其他肿瘤。对患者的年龄,性别,病理分型,分期,组织分化程度,肿瘤浸润深度,是否有淋巴结转移等进行统计。本研究经本院伦理委员会批准(批件号 KY201837)。

1.2 材料

胃癌细胞系 MGC-803、MKN-28、SGC-7901 和正常胃黏膜细胞系 GES-1 由陆军军医大学第一附属医院普通外科实验室冻存;EDTA 抗原修复液(上海吉雅生物科技有限公司);DMEM 培养基、胎牛血清(ThermoFisher Scientific);Lipofectamine 2000 转染试剂(Invitrogen);Matrigel 胶(Corning);结晶紫(碧云天);总蛋白提取试剂盒(Solarbio),SDS-PAGE 凝胶试剂盒(Bio Rad);PVDF 膜(Millipore),ECL 化学发光试剂(碧云天);DAB 显色液(Solarbio),抗体 HMGA2,Snail1,GAPDH,E-Cadhrein,N-Cadhrein,Vimentin(affinity),山羊抗兔 HRP 标记二抗抗体(中杉金桥);免疫组织化学 SP 试剂盒(中杉金桥);Transwell 小室(Corning);HMGA2 过表达和 shRNA 沉默慢病毒载体(上海吉凯基因化学技术有限公司)、Snail1 的 siRNA(上海吉荧公司)。

1.3 免疫组化

参照免疫组化 S-P 试剂盒说明书行免疫组化染色:胃癌组织切片置于 60 ℃烘箱中 2 h 后迅速置入新鲜二甲苯中脱蜡,然后于梯度乙醇中水化。蒸馏水冲洗 1 min 后,加入 EDTA 抗原修复液煮沸 10 min,冷却至室温。磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3 min×3 次,加入适量内源性过氧化物酶阻断剂,室温孵育 10 min,PBS 冲洗 3 min×3 次,滴加适量封闭用正常山羊血清工作液,室温孵育 15 min,倾去山羊血清,根据切片组织大小滴加适量兔抗人胃癌单克隆抗体 HMGA2,37 ℃孵箱中孵育 60 min,PBS 冲洗 3 min×3 次,滴加适量生物素标记的山羊抗兔 IgG 聚合物工作液,室温孵育 15 min,PBS 缓冲液冲洗 3 min×3 次,滴加适量辣根酶标记链霉卵白素工作液,室温孵育 15 min;PBS 缓冲液冲洗 3 min×3 次,DAB 显色,室温孵育 8 min,自来水冲洗后

滴加改良苏木精染色液孵育 20 s;自来水冲洗,脱水、透明、封片、阅片。免疫组化评分为染色强度评分和阳性面积评分的乘积。染色强度评分标准:0(无阳性染色),1(弱阳性),2(中等强度阳性),3(强阳性)。阳性面积评分标准:1(阳性面积<25%),2(25%~50%),3(50%~75%),4(阳性面积>75%)[6]。将病例按照免疫组化评分进行分组,0~7 分归入低表达组,8~12 分归入高表达组。

1.4 生物信息学分析

利用 GEPIA 网站(http://gepia.cancer-pku.cn/)分析 HMGA2mRNA 在胃癌和正常胃组织的表达情况,胃癌组织和正常胃组织 HMGA2 mRNA 测序数据分别来源于 TCGA(The Cancer Genome Atlas)数据库和 GTE×(Genotype-Tissue Expression)数据库;利用 Kaplan Meier-plotter 网站(http://kmplot.com/analysis/)分析 HMGA2mRNA 表达水平与胃癌患者 OS(Overall Survival)、RFS(recurrence-free survival)的相关性。

1.5 细胞培养

MGC-803、MKN-28、SGC-7901、GES-1 细胞利用含 10%胎牛血清的 DMEM 完全培养基培养,孵箱温度 37 ℃,CO_2 浓度 5%。

1.6 转染

MGC-803 细胞、SGC-7901 细胞以每孔 2×10^4 个细胞接种于 48 孔板,待细胞融合度 40%~50%时,分别转染 HMGA2 高表达以及 shRNA 慢病毒,滴度为 1×10^4TU,转染 8~12 h 后换液,更换新的培养基。待细胞长满后正常传代至 12 孔板,分别于 24、48 h,利用荧光显微镜观察细胞荧光表达情况。过表达 HMGA2 的 SGC-7901 细胞,按照 Lipofectamine 2000 说明书转染靶向特异性敲降 Snail1 的 siRNA,转染时间为 48 h。

1.7 平板克隆实验

收集对数期生长的细胞接种于 6 孔板中,每孔约 300 个细胞。添加含 10%FBS 的 DMEM 完全培养液至 2 mL,37 ℃孵箱培养。定期观察细胞集落数量,直至出现肉眼可见的细胞克隆(10 d 左右)。弃培养液,PBS 洗涤后无水甲醛固定,结晶紫染色 5 min,PBS 洗净拍照计数。计算细胞数 10 以上的细胞集落数。

1.8 侵袭实验

Transwell 小室(Corning)铺于 24 孔板上,Matrigel 胶(Corning)稀释至 200 μg/mL,每小室加 150 μL(37 ℃)。待胶凝固后,收集对数期生长的 MGC-803 细胞,以无血清 DMEM 培养液稀释至 5×10^5 个/mL,上室加入 150 μL 细胞悬液,下室加入 700 μL 含 10% FBS 的 DMEM 完全培养液。37 ℃孵箱培养 24 h 后取出小室,PBS 漂洗 2 次,棉签拭去上室内残留的 Matrigel 胶,无水甲醇固定 20 min 后结晶紫染色 5 min。将小室倒置于显微镜下,选取中间及上下左右 5 个视野观察拍照,计数并统计。重复 3 次实验。

1.9 Western blot

细胞转染 48 h 后,按照总蛋白提取试剂盒说明提取蛋白,利用 SDS-PAGE 凝胶配置试剂盒制胶,加样,电泳电压为浓缩胶 80 V,30 min,分离胶 120 V,1 h,电泳完成后,半干转 18 V,20 min。取出 PVDF 膜用 5%牛奶封闭 2 h,添加一抗(1∶1 000)4 ℃过夜。取出 PVDF 膜,PBST 洗涤 3 次,每次 10 min。添加二抗(1∶5 000),室温孵育 1 h。后用 PBST 洗涤 3 次,每次 10 min,滴加 ECL 化学发光试剂,使用凝胶成像仪采集图像。

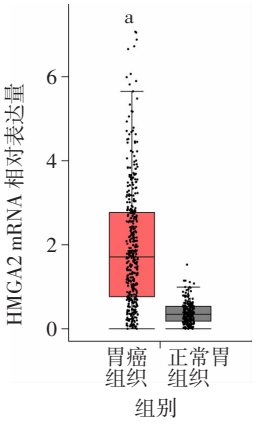
1.10 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件对相关数据资料进行分析,配对计量资料比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 HMGA2 mRNA 在胃癌组织中表达水平上调

利用 GEPIA 网站比较 211 例正常胃组织和 408 例胃腺癌组织样本中 HMGA2 mRNA 表达差异,结果发现 HMGA2 mRNA 在正常胃组织表达较低,在胃癌组织中表达明显增加($P<0.05$,图 1),提示 HMGA2 mRNA 在胃癌组织中高表达,可能有促进癌症进展的作用。



a:$P<0.05$,与正常胃组织比较

图 1 HMGA2 mRNA 在 TCGA 胃癌组织数据库和 GTEx 正常胃组织数据库中的表达情况差异比较

2.2 HMGA2 蛋白在胃癌组织中表达水平上调

胃癌组织中 HMGA2 阳性表达率为 69.4%(50/72),明显高于癌旁组织 12.5%(9/72),($P<0.05$,图 2)。

2.3 HMGA2 表达与胃癌临床病理特征的相关性

HMGA2 的表达水平与胃癌组织的分化程度、TNM

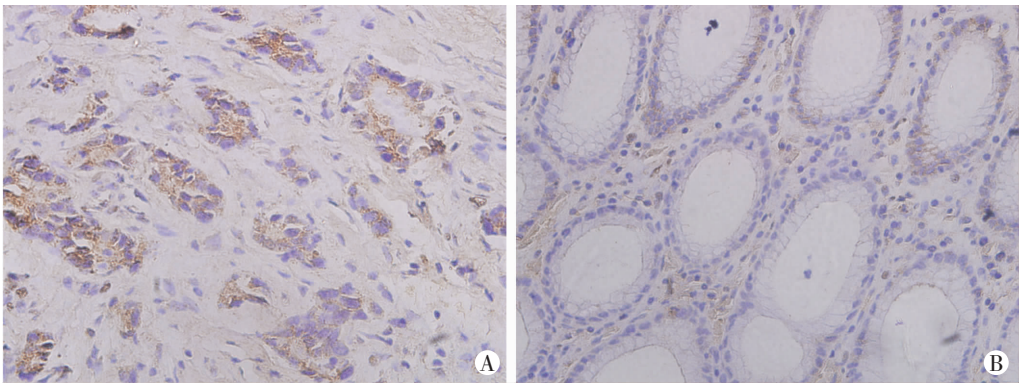
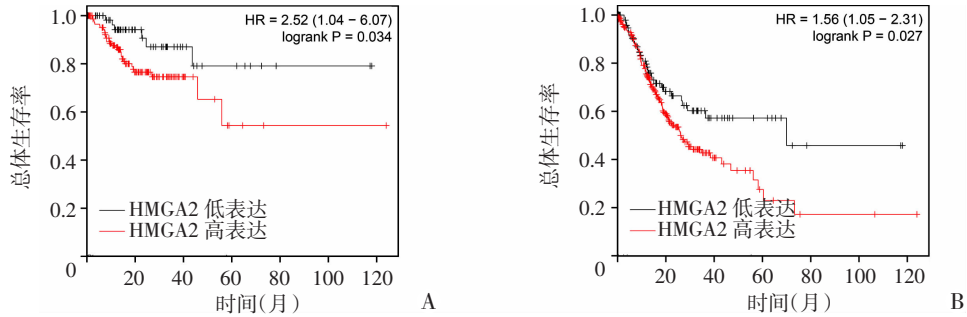


图 2　免疫组化实验检测胃癌组织(A)和癌旁组织(B)中 HMGA2 表达情况　(S-P×400)



A:HMGA2 mRNA 表达水平对胃癌患者 RFS 的影响;B:HMGA2 mRNA 表达水平对胃癌患者 OS 的影响

图 3　HMGA2 mRNA 表达水平在胃癌患者中的生存分析

分期、有无淋巴结转移相关(P<0.05)。与性别、年龄无相关性,见表 1。

表 1　HMGA2 表达水平与胃癌患者临床特征的相关性分析

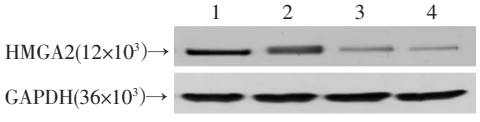
临床特征	例数	HMGA2 表达水平		P
		低	高	
性别				
男	43	15	28	0.972
女	29	10	19	
年龄				
≤60	25	11	14	0.516
>60	47	17	30	
分化程度				
中、高分化	42	18	24	0.019
低分化	30	5	25	
TNM 分期				
Ⅰ-Ⅱ期	21	11	10	0.007
Ⅲ-Ⅳ期	51	13	48	
淋巴结转移				
有	39	4	35	0.002
无	33	15	18	

2.4　HMGA2 表达与胃癌患者生存相关

结合 TCGA 数据库胃癌患者生存预后信息和 HMGA2 mRNA 表达水平,利用 Kaplan Meier-plotter 网站分析 HMGA2 mRNA 表达水平与胃癌患者 OS 的关系(图 3)。结果显示,HMGA2 高表达的胃癌患者,OS 明显缩短(P<0.05)。进一步分析 HMGA2 mRNA 表达水平对患者 RFS 的影响,结果显示 HMGA2 mRNA 高表达的胃癌患者,RFS 明显缩短(P<0.05)。

2.5　在 MGC-803 和 SGC-7901 细胞中下调和上调 HMGA2 的表达水平

为了研究 HMGA2 在胃癌中发挥的作用需要筛选合适的细胞系调控 HMGA2 的表达。Western blot 结果显示 HMGA2 在 MGC-803 细胞中相对高表达,在 SGC-7901 细胞中相对低表达(图 4),在此基础上,MGC-803 细胞转染 HMGA2 shRNA,使其表达下调,SGC-7901 细胞转染 HMGA2 高表达慢病毒,使其表达上调,Western blot 验证转染后 HMGA2 表达水平(图 5)。



1:MGC-803;2:MKN-28;3:SGC-7901;4:GES-1

图 4　胃癌细胞系 MGC-803、MKN-28、SGC-7901 和正常胃黏膜细胞系 GES-1 中 HMGA2 蛋白表达情况

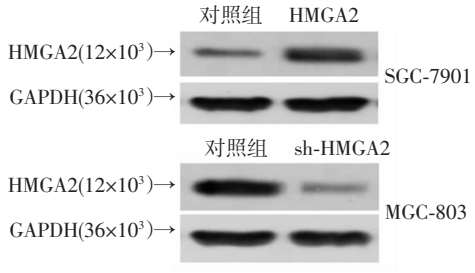


图 5 分别转染 HMGA2 和 sh-HMGA2 后 SGC-7901 和 MGC-803 细胞中 HMGA2 蛋白的表达水平

2.6 HMGA2 对胃癌细胞增殖能力的影响

应用平板克隆实验检测敲低和高表达 HMGA2 对胃癌细胞增殖能力的影响(图 6)。在 MGC-803 细胞中敲低 HMGA2,结果显示对照组与 sh-HMGA2 组细胞集落数有差异($P<0.05$),对照组细胞集落数为 225.70±12.91,sh-HMGA2 组细胞集落数为 101.03±6.69;在 SGC-7901 细胞中高表达 HMGA2,结果显示对照组与 HMGA2 组细胞集落数有差异($P<0.05$),对照组细胞集落数为 79.70±7.31,HMGA2 组细胞集落数为 283.00±28.04。

2.7 HMGA2 对胃癌细胞侵袭能力的影响

利用 Transwell 实验检测敲低和高表达 HMGA2 对胃癌细胞侵袭能力的影响(图 7)。在 MGC-803 细胞中敲低 HMGA2,结果显示对照组与 sh-HMGA2 组穿膜细胞数有差异($P<0.05$),对照组穿膜细胞数为 325.70±14.05,sh-HMGA2 组穿膜细胞数为 124.30±10.91;在 SGC-7901 细胞中高表达 HMGA2,结果显示对照组与 HMGA2 组穿膜细胞数有差异($P<0.05$),对照组穿膜细胞数为 123.30±6.94,HMGA2 组穿膜细胞数为 424.30±8.99。

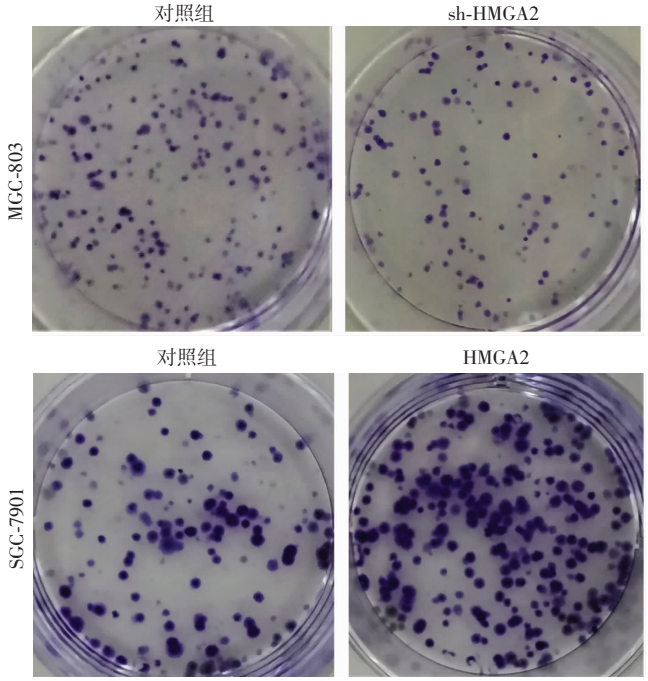


图 6 平板克隆实验检测 HMGA2 对胃癌细胞增殖能力的影响

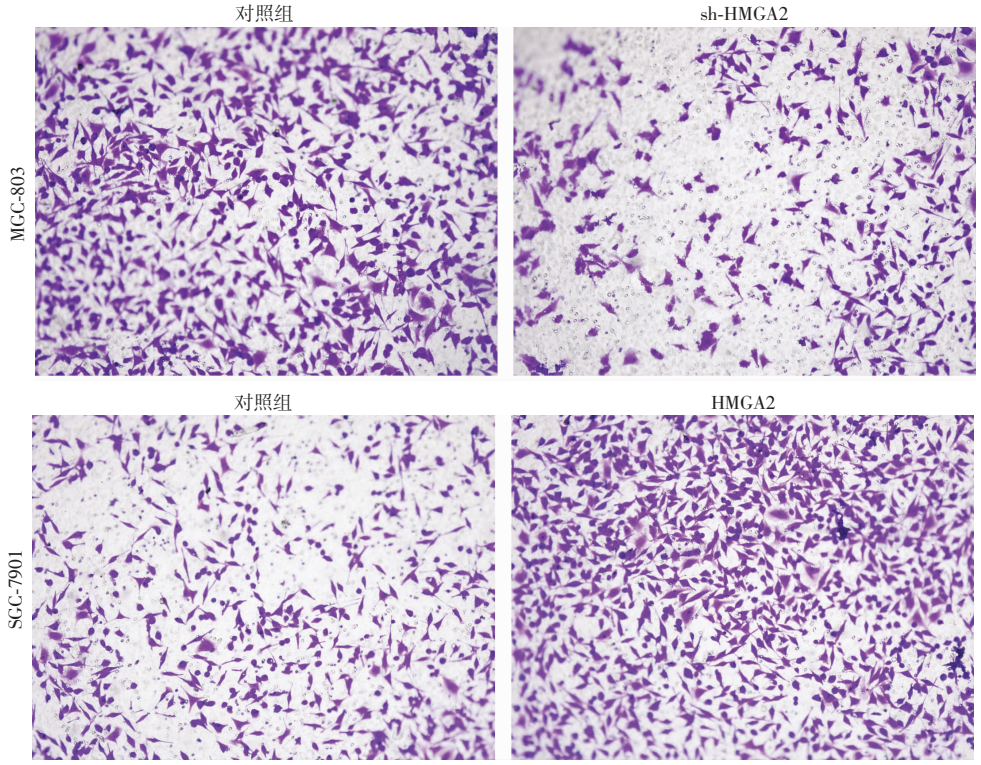


图 7 Transwell 实验检测 HMGA2 对胃癌细胞侵袭能力的影响 (×200)

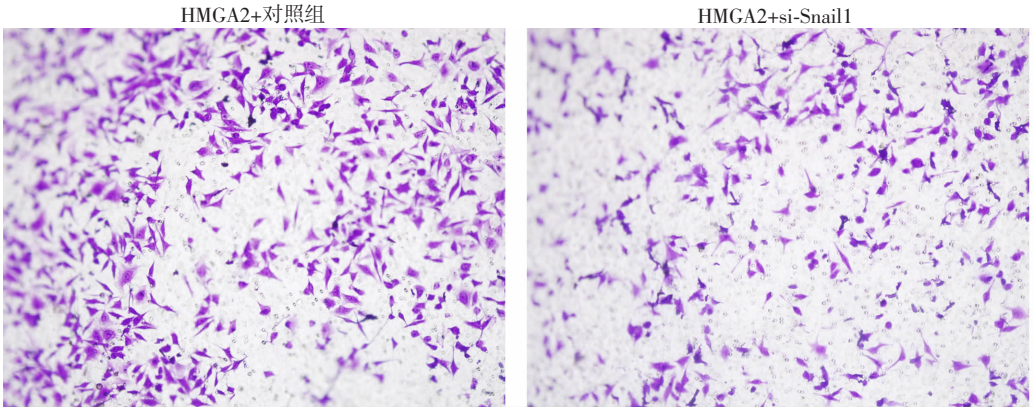
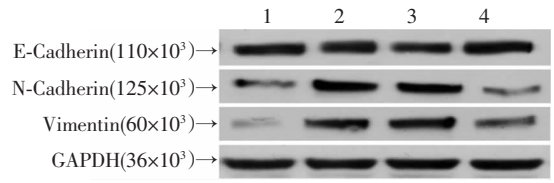


图 8 Transwell 实验检测敲低 Snail1 对胃癌细胞侵袭功能的影响 (×200)

2.8 HMGA2 通过 Snail1 调节促进胃癌细胞侵袭转移

Transwell 实验(图 8)、Western blot(图 9)检测转染 HMGA2 以及抑制 Snail1 表达后,SGC-7901 细胞侵袭能力的变化。Transwell 实验结果显示 HMGA2+对照组和 HMGA2+si-HMGA2 组穿膜细胞数有差异($P<0.05$),HMGA2+对照组穿膜细胞数为 286.00±13.65,HMGA2+si-HMGA2 组穿膜细胞数为 121.30±7.22;Western blot 结果显示高表达 HMGA2 后,E-cadherin 的表达降低,N-cadherin 和 Vimentin 的表达升高($P<0.05$);若同时抑制 Snail1 的表达,HMGA2 的调控作用受到抑制,表现为 E-cadherin 的表达升高,N-cadherin 和 Vimentin 的表达降低($P<0.05$)。



1:对照组;2:HMGA2 高表达组;3:HMGA2 高表达+si-NC 组;4:HMGA2 高表达+si-Snail1 组

图 9 Western blot 检测敲低 Snail1 对胃癌细胞 EMT 标志蛋白表达的影响

3 讨论

HMGA2 蛋白作为细胞内重要的转录调节因子,参与着多种细胞功能的调节,包括细胞周期[7],细胞分化[8],衰老和肿瘤转化[4]。HMGA2 过度表达与许多癌症的发生发展相关,包括乳腺癌[9]、非小细胞肺癌[10]、胃癌[11]、结直肠癌[12]等。本研究利用生物信息学和免疫组化技术检测 HMGA2 在胃癌组织及癌旁组织的表达,发现 HMGA2 在胃癌组织表达水平高于癌旁组织;免疫组化结果及临床数据分析表明 HMGA2 表达水平与胃癌的分化程度、淋巴结转移、TNM 分期相关,而与性别、年龄无关。HMGA2 低表达患者 OS 和 RFS 显著升高,提示 HMGA2 可能与胃癌的发展有关,但具体机制仍不清楚。

上皮-间质转化(EMT)是肿瘤侵袭转移中的关键过程[13-14]。ZHA 等[15]研究发现 HMGA2 通过 Wnt/β-catenin 途径诱导胃癌发生 EMT 从而促进胃癌的侵袭转移。同时,HMGA2 与 pRb 相互作用驱动 FOXL2 的反活化可能对胃癌的转移和 EMT 产生重要影响[16]。可以推断,HMGA2 在胃癌细胞 EMT 中起重要作用。EMT 相关转录因子 Snail1 属于锌指蛋白 Snail 超家族,通过同 Smad 相互作用蛋白(SIP1)竞争性结合 E-cadherin 启动子区的 E-box 连接基序,抑制 E-cadherin 的表达并使 Vimentin 表达水平上升,从而诱导 EMT 的发生[17]。研究表明,Snail1 过表达可以促进胃癌细胞的侵袭和转移。CLDN6 能通过 YAP1-snail1 通路促进胃癌的进展[18]。长链非编码 RNA H19 被证实通过 miR-22-3p/Snail1 通路调控胃癌细胞的生长和转移[19]。同时,FBXO31 能够通过靶向 Snail1 抑制蛋白酶体降解来抑制胃癌 EMT 过程,从而抑制胃癌的转移[20]。研究发现,在 TGF-β 信号通路中,Smad 可以通过 HMGA2 上调其下游目标基因 Snail1 的表达[21]。然而,HMGA2 是否通过 Snail1 调节胃癌细胞 EMT 从而促进胃癌的侵袭转移尚未得到证实。本研究通过在 SGC-7901 细胞中过表达 HMGA2,同时抑制 Snail1 的表达,观察 Snail1 和 HMGA2 在胃癌细胞侵袭转移和 EMT 启动中的作用。结果显示,SGC-7901 细胞过表达 HMGA2 后侵袭、增殖能力升高,同时 E-cadherin 的表达降低,N-cadherin 和 Vimentin 的表达升高。敲低 Snail1 抑制了 HMGA2 介导的胃癌细胞侵袭转移,并使 EMT 过程增加。这些结果显示 HMGA2 可能通过影响 Snail1 的表达,诱导胃癌细胞 EMT 从而促进胃癌的侵袭转移。

本研究验证了 HMGA2 与胃癌临床病理特征及预

后的相关性,还通过体外实验探索了 HMGA2 可能通过调控 Snail1 促进胃癌细胞侵袭转移,可能为胃癌治疗提供新的靶点。本研究的不足之处在于未能在体内实验验证 HMGA2 通过 Snail1 影响胃癌侵袭转移的机制,具体实验将在后续深入研究中进行。

参考文献:

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al*. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.

[2] KIM G H, LIANG P S, BANG S J, *et al*. Screening and surveillance for gastric cancer in the United States: Is it needed?[J]. Gastrointest Endosc, 2016, 84(1): 18-28. DOI: 10.1016/j.gie.2016.02.028.

[3] SGARRA R, RUSTIGHI A, TESSARI M A, *et al*. Nuclear phosphoproteins HMGA and their relationship with chromatin structure and cancer[J]. FEBS Lett, 2004, 574(1/2/3): 1-8. DOI: 10.1016/j.febslet.2004.08.013.

[4] WOOD L J, MAHER J F, BUNTON T E, *et al*. The oncogenic properties of the HMG-I gene family[J]. Cancer Res, 2000, 60(15): 4256-4261.

[5] LEE J, HA S, JUNG C K, *et al*. High-mobility-group A2 overexpression provokes a poor prognosis of gastric cancer through the epithelial-mesenchymal transition[J]. Int J Oncol, 2015, 46(6): 2431-2438. DOI: 10.3892/ijo.2015.2947.

[6] HINDRIKSEN S, BIJLSMA M F. Cancer stem cells, EMT, and developmental pathway activation in pancreatic tumors[J]. Cancers, 2012, 4(4): 989-1035. DOI: 10.3390/cancers4040989.

[7] FEDELE M, FUSCO A. Role of the high mobility group A proteins in the regulation of pituitary cell cycle[J]. J Mol Endocrinol, 2010, 44(6): 309-318. DOI: 10.1677/JME-09-0178.

[8] PARISI S, PISCITELLI S, PASSARO F, *et al*. HMGA proteins in stemness and differentiation of embryonic and adult stem cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(1): E362. DOI: 10.3390/ijms21010362.

[9] LANGELOTZ C, SCHMID P, JAKOB C, *et al*. Expression of high-mobility-group-protein HMGI-C mRNA in the peripheral blood is an independent poor prognostic Indicator for survival in metastatic breast cancer[J]. Br J Cancer, 2003, 88(9): 1406-1410. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600935.

[10] MEYER B, LOESCHKE S, SCHULTZE A, *et al*. HMGA2 overexpression in non-small cell lung cancer[J]. Mol Carcinog, 2007, 46(7): 503-511. DOI: 10.1002/mc.20235.

[11] MOTOYAMA K, INOUE H, NAKAMURA Y, *et al*. Clinical significance of high mobility group A2 in human gastric cancer and its relationship to let-7 microRNA family[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(8): 2334-2340. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4667.

[12] HUANG M L, CHEN C C, CHANG L C. Gene expressions of HMGI-C and HMGI(Y) are associated with stage and metastasis in colorectal cancer[J]. Int J Colorectal Dis, 2009, 24(11): 1281-1286. DOI: 10.1007/s00384-009-0770-7.

[13] WATANABE S, UEDA Y, AKABOSHI S, *et al*. HMGA2 maintains oncogenic RAS-induced epithelial-mesenchymal transition in human pancreatic cancer cells[J]. Am J Pathol, 2009, 174(3): 854-868. DOI: 10.2353/ajpath.2009.080523.

[14] WU J J, LIU Z J, SHAO C S, *et al*. HMGA2 overexpression-induced ovarian surface epithelial transformation is mediated through regulation of EMT genes[J]. Cancer Res, 2011, 71(2): 349-359. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2550.

[15] ZHA L, ZHANG J, TANG W X, *et al*. HMGA2 elicits EMT by activating the Wnt/β-catenin pathway in gastric cancer[J]. Dig Dis Sci, 2013, 58(3): 724-733. DOI: 10.1007/s10620-012-2399-6.

[16] DONG J Q, WANG R, REN G, *et al*. HMGA2-FOXL2 Axis regulates metastases and epithelial-to-mesenchymal transition of chemoresistant gastric cancer[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(13): 3461-3473. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2180.

[17] WANG Y F, SHI J, CHAI K Q, *et al*. The role of snail in EMT and tumorigenesis[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2013, 13(9): 963-972. DOI: 10.2174/15680096113136660102.

[18] YU S T, ZHANG Y Q, LI Q, *et al*. CLDN6 promotes tumor progression through the YAP1-snail1 Axis in gastric cancer[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(12): 949. DOI: 10.1038/s41419-019-2168-y.

[19] GAN L, LV L, LIAO S. Long non-coding RNA H19 regulates cell growth and metastasis via the miR-22-3p/Snail1 axis in gastric cancer. Int J Oncol. 2019;54(6): 2157-2168. DOI: 10.3892/ijo.2019.4773

[20] ZOU S Y, MA C Y, YANG F H, *et al*. FBXO31 suppresses gastric cancer EMT by targeting Snail1 for proteasomal degradation[J]. Mol Cancer Res, 2018, 16(2): 286-295. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-17-0432.

[21] THUAULT S, VALCOURT U, PETERSEN M, *et al*. Transforming growth factor-beta employs HMGA2 to elicit epithelial-mesenchymal transition[J]. J Cell Biol, 2006, 174(2): 175-183. DOI: 10.1083/jcb.200512110.

(收稿:2019-01-07;修回:2020-02-11)

(编辑 黄 超)