恶性肿瘤的分子诊断 文章编号：0253-3626（2011）06-0645-05

探讨 Snail 调控上皮间质转化在结直肠癌侵袭、转移方面的作用及意义

代剑波，王继见，郝亚琴
（重庆医科大学附属第二医院普外科，重庆 400010）

【摘 要】目的：转录因子 Snail 能够抑制 E-cadherin（E-cad）的表达促进上皮间质转化（Epithelial to mesenchymal transition，EMT），从而促进肿瘤侵袭与转移。本研究通过检测 Snail 及 E-cad 在结直肠癌组织、癌旁组织及结肠癌 SW480 细胞中的表达，探讨 Snail 调控 EMT 在结直肠癌侵袭、转移方面的作用及意义。方法：免疫组化检测 40 例结直肠癌组织及癌旁组织中Snail、E-cad 的表达情况；siRNA 干扰 Snail 基因后将结肠癌 SW480 细胞分为对照组、空质粒组及 siRNA-Snail 转染组，RT-PCR 分别检测各组结肠癌 SW480 细胞 Snail、E-cad mRNA 表达；Transwell 小室基质侵袭实验和异质粘附实验分别检测各组结肠癌细胞侵袭与异质粘附能力。结果：结直肠癌组织细胞中 Snail、E-cad 阳性表达率分别为 57.5%、27.5%，癌旁组织细胞 10%、80%；2 种蛋白在结直肠癌组织细胞和癌旁组织细胞中的表达差异具有统计学意义（$P<0.05$），均与结直肠癌组织的分化程度及淋巴结转移具有相关性（$P<0.05$），而与性别、年龄无相关性（$P>0.05$），且二者的表达呈负相关（$P<0.05$）；RT-PCR 结果显示，与对照组相比，Snail、E-cad mRNA 表达在空质粒组差异无统计学意义（$P>0.05$），而转染组差异具有统计学意义（$P<0.05$）；基质侵袭实验和异质粘附实验结果显示，与对照组相比，转染组结肠癌细胞侵袭力和异质粘附力降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$），而空质粒组差异无统计学意义（$P>0.05$）。结论：Snail 调控 EMT 与结直肠癌的侵袭和转移密切相关，Snail、E-cad 可以作为判断结直肠癌侵袭和转移的指标。

【关键词】结直肠癌；上皮间质转化；Snail；E-cad
【中国图书分类法分类号】R735.3+4 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-11-05

作者介绍：代剑波（1985-），男，硕士，
研究方向：胃肠道肿瘤。
通信作者：王继见，男，教授，Email：Wangjj1963@163.com。

196（1）：93-100.

[11] Chandak P G，Gaikwad A B，Tikoo K.Gallotannin ameliorates the development of streptozotocin-induced diabetic nephropathy by preventing the activation of PARP[J].Phytotherapy Research，2009，23（1）：72-77.

[12] Nakajima H，Nagaso H，Kakui N，et al.Critical role of the automodification of poly（ADP-ribose）polymerase-1 in nuclear factor-kappaB-dependent gene expression in primary cultured mouse glial cells[J].Biol Chem，2004，279（41）：42774-42786.

[13] Marin-Castaño M E，Elliot S J，Potier M，et al.Regulation of estrogen receptors and MMP-2 expression by estrogens in human retinal pigment epithelium[J].Invest Ophthalmol Vis Sci，2003，44（1）：50-59.

[14] Wang J H，Manning B J，Wu Q D，et al.Endotoxin/lipopolysaccharide activates NF-kappa B and enhances tumor cell adhesion and invasion through a beta 1 integrin-dependent mechanism[J].J Immunol，2003，170（2）：795-804.

[15] 蔡 莉，王娅兰，林 晓.PARP 抑制剂 5-AIQ 对小鼠结肠癌 CT26 细胞 PARP/NF-κB 复合物和 NF-κB 活性的影响[J].基础医学与临床，2008，28（11）：1156-1159.

[16] Cuzzocrea S，Mazzon E，Genovese T，et al.Role of poly（ADP-ribose）glycohydrolase in the development of inflammatory bowel disease in mice[J].Free Radic Biol Med，2007，42（1）：90-105.

[17] Shukla S，Maclennan G T，Marengo S R，et al.Constitutive activation of PI3K-Akt and NF-kappaB during prostate cancer progression in autochthonous transgenic mouse model[J].Prostate，2005，64（3）：224-239.

[18] Finzel A H，Reininger A J，Bode P A，et al.ICAM-1 supports adhesion of human small cell lung cracinoma to endothelial cells[J].Clin Exp Metastasis，2004，21（3）：185-189.

[19] Haznedaroglu I C，Bebekli M，Ozcebe O，et al.Serum L-selectin and P-seletin levels in lymphomas[J].Haematologia，2000，30（1）：27-30.

[20] Hirata T，Merrill S G，Aab M，et al.P-Selectin glycoprotein ligand 1（PSGL-1）is a physiological ligand for E-selectin in mediating T helper 1 lymphocyte migration[J].The Journal of Experimental Medicine，2000，192（11）：1669-1676.

[21] Vandana S D，Wolfgang B，Heather A M，et al.Activated platelets induce Weibel-Palade-body secretion and leukocyte rolling in vivo：role of P-selectin[J].Blood，2005，106（7）：2334-2339.

（责任编辑：冉明会）

To investigate the role and significance of EMT regulated by Snail in the invasion and metastasis of colorectal cancer

DAI Jian-bo, WANG Ji-jian, HAO Ya-qin

(*Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: Transcription factor Snail can restrain the expression of E-cad, which results in epithelial-mesenchymal transition, thereby promoting invasion and metastasis of cancers. This study aimed to investigate the role and significance of EMT regulated by Snail in colorectal cancer of invasion and metastasis, through detecting the expression of Snail and E-cad in colorectal cancer, adjacent tissues and colorectal cancer cells SW480. *Methods*: Immunohistochemical detection the Snail, E-cad expression of 40 cases of colorectal cancer and adjacent tissues and to analyze their correlation; siRNA interference Snail gene of colorectal cancer cells SW480, which were divided into control group, empty plasmid group and transfection group, RT-PCR were used to detect Snail, E-cad mRNA expression in each group; Transwell chamber invasion assay and heterogeneous matrix adhesion experiments were used to detect the invasion of colorectal cancer cell in each group and the heterogeneity of adhesion ability. *Results*: The positive rate of Snail and E-cad were 57.5% and 27.5% in colorectal cancer tissues, and 10%, 80% in adjacent tissues respectively, with statistically significant between colorectal cancer tissues and adjacent tissues ($P<0.05$). The expression of these two proteins was related to the differentiation and lymph node metastasis ($P<0.05$), but not to patients' age, sex ($P>0.05$). And the expression of Snail was negatively correlated with E-cad ($P<0.05$). RT-PCR results showed that compared with the control group, Snail, E-cad mRNA expression in the empty plasmid group was not significant ($P>0.05$), while transfection groups was statistically significant ($P<0.05$); matrix invasion assay and heterogeneous adhesion test results showed that compared with the control group, colorectal cancer cells transfected reduced invasiveness and adhesion heterogeneity, the difference was statistically significance ($P<0.05$), while the empty plasmid group was not statistically significant ($P>0.05$). *Conclusion*: Snail regulation of EMT was closely related with invasion and metastasis of colorectal cancer, Snail, E-cad can be used as the indicators of invasion and metastasis of colorectal cancer.

【Key words】colorectal cancer; epithelial mesenchymal transition; Snail; E-cad

结直肠癌在我国的发病率呈逐年上升的趋势，多数患者死于转移，故对结直肠癌的侵袭和转移的研究一直是结直肠癌研究的热点。上皮间质转化（Epithelial to mesenchymal transition，EMT）是一种基本的生理病理现象，越来越多的证据表明 EMT 是许多肿瘤侵袭和转移早期的一个重要的过程[1]；而 E-cad 表达的降低被认作是 EMT 的主要标志[2]。Snail 作为一种重要的转录抑制因子，通过与 E-cad 启动子区的 E-盒（E-box）结合，下调 E-cad 的表达进而诱导 EMT 的发生[3]。当前的研究显示 Snail 调控 EMT 与乳腺癌侵袭、转移密切相关，而在结直肠癌中的研究报道较少，本研究通过免疫组化检测结直肠癌 Snail、E-cad 的表达情况，同时干扰 Snail 基因的表达，分别检测各组结肠癌 SW480 细胞 Snail、E-cad mRNA 表达，侵袭及异质粘附能力的变化，探讨 Snail 调控 EMT 在结直肠癌发生发展中的机制。

1 材料与方法

1.1 标本来源

40 例结直肠癌组织、癌旁组织（距癌灶距离≥5 cm）来自重庆医科大学附属第一医院、重庆医科大学附属第二医院、涪陵中心医院胃肠外科，每例标本皆经病理确诊。结直肠癌病例：男性 22 例，女性 18 例；年龄 35~85 岁，中位年龄 57 岁；分化类型：低分化 19 例，中高分化 21 例；无淋巴结转移 21 例，有淋巴结转移 19 例。

1.2 主要试剂

羊抗人的 Snail 多克隆抗体、Snail siRNA 质粒及空质粒均购自美国 Santa Cruz 公司；鼠抗人 E-cad 单克隆抗体及 DAB 购自北京中杉生物技术工程有限公司；抗羊来源及抗鼠来源的 SABC 免疫组化试剂盒皆购自武汉博士德生物工程有限公司。人结肠癌 SW480 细胞株由重庆医科大学基础研究所保存。RPMI1640 细胞培养基购自美国 Pierce 生物公司；RT-PCR 试剂盒和脂质体转染试剂盒均购自 Gibico 公司。

1.3 免疫组化

采用免疫组化 SABC 法染色。按照说明书进行操作。用磷酸盐缓冲液（Phosphate buffered solution，PBS）代替一抗作阴性对照，并用已知的结直肠癌阳性组织切片作阳性对照。以胞核或细胞质内出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性细胞，且其着色强度高于背景非特异性染色。每例切片随机选取 10 个高倍视野，以阳性细胞的百分比进行结果判定。阴性（-）：百分比<10%；阳性（+）：百分比≥10%。

1.4 细胞培养

结肠癌 SW480 细胞加入含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养液中，置于 37℃、5%CO_2 饱和湿度的培养箱内培养，当细

胞长满培养皿底的 80%左右时，用 0.2%胰酶消化传代，使细胞处于对数生长期。

1.5 实验分组及实验前各组细胞预处理

设置对照组、空质粒组和 Snail siRNA 转染组。取对数生长期的细胞，以 1×10^6 个/孔接种于 6 孔板中，常规培养过夜后，各组分别给予相应的处理因素。①对照组：常规培养；②空质粒组：空质粒转染结肠癌细胞，方法同 Snail siRNA 组；③Snail siRNA 转染组：Snail siRNA 转染结肠癌 SW480 细胞：将 10 μl 脂质体 2 000 和 5 μl Snail siRNA 的质粒分别稀释到 100 μl 无血清无抗生素的 RPMI1640 培养液内，室温静止 5 min，然后将二者充分混合，室温静置 20 min。将转染组的细胞培养液吸出，用无血清无抗生素的 RPMI1640 培养液洗涤 2 次，加入上述混合物，轻轻摇匀，覆盖整个细胞层，常规培养 6 h。6 h 后将复合物吸出，加入含血清无抗生素的 RPMI1640 培养液，总体积 2 ml。各组细胞分别培养 48 h 后收集备用。

1.6 RT-PCR

分别提取各组结肠癌细胞总 RNA，RT-PCR（引物序列、产物长度及退火温度见表 1）：RT：37℃ 15 min，85℃ 5 s；PCR：94℃预变性 5 min、变性 30 s，最佳退火温度 30 s，72℃延伸 30 s，32 个循环，72℃延伸 10 min。然后取 4 μl 的反应产物，在 1.5%的琼脂糖凝胶上电泳，扫描光密度值。

1.7 Transwell 小室基质侵袭实验

用 24 孔板的 Transwell 小室，在每组小室的上膜涂 Marigel 胶 40 μl，紫外灯消毒 6 h。各实验组结肠癌 SW 480细胞预处理 48 h 后，每组上室加细胞 2×10^5 个，下室加入600 μl 培养液，并同时加 50 μl 血清。常规培养 24 h 后擦净小室内膜上细胞及 Marigel 胶，4%多聚甲醛固定，HE 染色，切膜，封片。200 倍镜下每膜随机计数上下左右中 5 个视野的细胞，取均值。

1.8 异质粘附实验

已铺好 Marigel 胶（3 μg/孔）的 96 孔培养板紫外灯照射过夜。各组结肠癌细胞预处理 48 h 后，按照 5×10^4 个/孔种板，每组设 8 个复孔，常规孵育 1 h；之后沿孔壁吸弃原培养液，PBS 洗 3 次，换为无血清培养基 100 μl，同时加入 10 μl 5 mg/ml MTT 继续作用 4 h，之后吸弃培养液，加入二甲亚砜（Dimethyl sulfoxide，DMSO）150 μl，震荡溶解 10 min；以培养液做空白对照并调零，用酶标仪测定 570 nm 处的吸光度值（OD 值）。粘附抑制率（IR%）=（1-转染组 OD 值/对照组 OD 值）×100%。

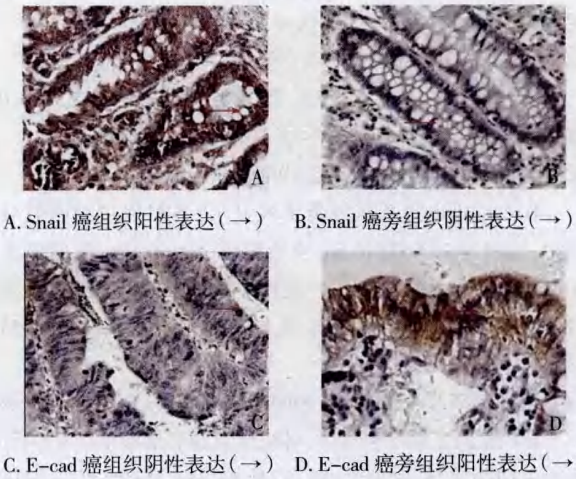
1.9 统计学方法

数值数据均用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，应用 SPSS17.0 统计软件包，采用 χ^2 检验、Fisher 精确概率法、配对资料的 Spearman 等级相关分析及单因素方差分析（Student-Newman-Keuls）进行统计学检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Snail 及 E-cad 表达情况

Snail 主要在结直肠癌组织细胞的胞浆、胞核表达，阳性率为 57.5%（23/40），结直肠癌旁组织细胞表达也以胞浆、胞核表达为主，阳性率为 10%（4/40），两者比较差异有统计学意义（$P<0.05$）；E-cad 主要在结直肠癌组织细胞的胞膜和胞浆表达，阳性率为 27.5%（11/40），结直肠癌旁组织细胞也以胞膜和胞浆表达为主，阳性率为 80%（32/40），两者比较差异有统计学意义（$P<0.05$）（见图 1）。



A. Snail 癌组织阳性表达（→） B. Snail 癌旁组织阴性表达（→）

C. E-cad 癌组织阴性表达（→） D. E-cad 癌旁组织阳性表达（→）

图 1 结直肠癌组织和癌旁组织中 Snail、E-cad 的表达（SABC×200）

2.2 Snail 及 E-cad 的表达与结直肠癌临床病理因素的关系

Snail 在结直肠癌组织中的表达随肿瘤分化程度的增高而减少，低分化组阳性率高于中分化组，差异具有统计学意义（$P<0.05$），有淋巴结转移组阳性率高于无淋巴结转移组，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；而 E-cad 的表达则随肿瘤分化程度的降低而减少，差异具有统计学意义（$P<0.05$），有淋巴结转移组阳性率低于无淋巴结转移组，差异具有统计学意义（$P<0.05$）（见表 2）。

表 1 PCR 引物

基因名称		引物序列	引物长度	温度
Snail	Sense primer:	5'-TTCTCCCGAATGTCCCTGCTCC-3'	410 bp	56℃
	Antisense primer:	5'-CAGTGAGTCTGTCAGCCTTTGTCC-3'		
E-cad	Sense primer:	5'-GGTATCCTCCCATCAGCT-3'	308 bp	54℃
	Antisense primer:	5'-CAGTGTCCGGATAATCTCC-3'		
β-actin	Sense primer:	5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3'	205 bp	54℃
	Antisense primer:	5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3'		

表 2 结直肠癌组织中 Snail、E-cad 蛋白表达与病例资料、分化程度及淋巴结转移的关系

临床病例资料	n (40)	Snail +	Snail −	P	E-cad +	E-cad −	P
性别				0.676			1.000
男	22	12	10		5	17	
女	18	11	7		6	12	
年龄				0.385			0.498
≤57	22	14	8		5	17	
>57	18	9	9		6	12	
分化程度				0.001			0.022
低分化	19	16	3		2	17	
中高分化	21	7	14		9	12	
淋巴结转移				0.049			0.003
无	21	9	12		10	11	
有	19	14	5		1	18	

2.3 结直肠癌组织中 Snail 及 E-cad 表达的关系

Snail、E-cad 在结直肠癌中的表达经配对资料 Spearman 相关分析显示呈负相关（r=-0.49，P=0.003）。

2.4 Snail、E-cad mRNA 的表达情况

与对照组和空质粒组相比，转染组 Snail 表达减弱、E-cad 表达增强，差异均具有统计学意义（P<0.05）（见图 2、3）。

2.5 各组干扰因素对结肠癌 SW480 细胞侵袭能力的影响

Transwell 小室基质侵袭实验显示，各组侵袭细胞数分别为：对照组 233.67±16.56，空质粒组 218.00±14.73，转染组 46.67±7.77。与对照组相比，空质粒组无差异性，转染组结肠癌 SW480 细胞侵袭力明显减弱，差异具有统计学意义（P<0.05）（见图 4）。

2.6 各组干扰因素对结肠癌 SW480 细胞异质粘附能力的影响

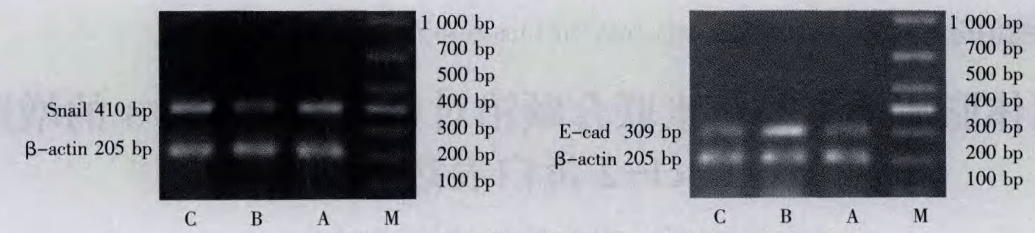
异质粘附实验结果显示，各组结直肠癌细胞与 Marigel胶粘附力抑制情况：对照组 0%，空质粒组（4.71±1.72）%，转染组（70.84±3.91）%。与对照组相比，空质粒组差异无统计学意义，转染组结肠癌 SW480 细胞异质粘附力明显受到抑制，差异有统计学意义（P<0.05）。

3 讨 论

1982 年 Garry Greenburg 和 Hay 在细胞实验中发现晶状体上皮细胞在胶原凝胶中形成伪足，转变为间质细胞样形态，于是首次提出 EMT 概念，EMT 不仅是胚胎时期三胚层、器官形成等所必须的生理现象，而且也常见于慢性炎症、组织重建、纤维化及肿瘤转移等多种病理过程[4]。Snail 作为 Snail 家族的第一个成员，首先是在果蝇中被发现的，在中胚层的形成过程中发挥重要作用[5]。Cano A 等[6]的研究首次证明，锌指转录因子 Snail 直接结合 E-cad 的启动子，下调 E-cad 的表达，通过降低细胞间的粘附，破坏正常组织形态，促进肿瘤侵袭。Martin 等研究显示 Snail 通过抑制 E-cad 的表达调控 EMT 在乳腺癌转移中发挥了重要的作用[7]。而 EMT 在结直肠癌发生发展机制的研究相对较少，Pena 等研究显示 Snail 在结肠癌中的表达与 E-cad 在正常组织中表达下降有关[8]。高维哲等研究显示锌指转录因子 Snail 定位于结肠癌 SW480 细胞的细胞核内，且与结直肠癌的发生、演进、转移相关[9]。郑伯安等通过免疫组织化学研究提示 E-cad 和 Snail 在结直肠癌中的表达与肿瘤的侵袭、转移、预后相关，Snail 高表达和E-cad 低表达常常提示肿瘤处于进展阶段，且预后较差[10]。然而，郑伯安等对结直肠癌的研究集中在临床标本的相关性分析，而结直肠癌的侵袭和转移是一个动态的过程，故动态的监测 Snail 和 E-cad 的表达的关系将有助于我们进一步研究 EMT 在结直肠癌发生发展中的关系。

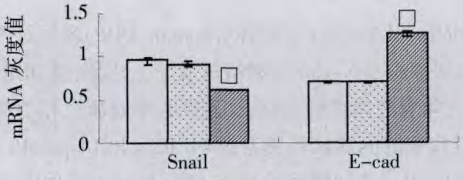
本研究免疫组化结果显示，Snail 在结直肠癌组织细胞中的表达（23/40）高于结直肠癌旁组织细胞的表达（4/40），二者的差异有统计学意义，与文献报道相符；E-cad 在结直肠癌组织细胞中的表达（11/40）低于结直肠癌旁组织（32/40）中的表达，且二者的差异有统计学意义，而 E-cad 作为细胞粘附分子，其表达的降低将直接导致结直肠癌细胞脱离细胞与细胞、细胞与细胞外基质的粘附而向远处迁徙，从而发生远处转移；并且通过对二者的相关性分析 Snail、E-cad 在结直肠癌组织细胞和结直肠癌旁组织细胞中的表达均呈负相关，均与前文献报道相符。因此，我们可以在临床上选择将Snail、E-cad 作为结直肠癌患者的病理检测指标，预测结直肠癌患者可能转移情况，指导临床结直肠癌患者的治疗；同时为临床上开辟针对 Snail 的靶向药物提供理论依据。

上述免疫组化结果表明 Snail 与 E-cad 在结直肠癌组织细胞和结直肠癌旁组织细胞中的表达呈负相关，而 E-cad 是 EMT 的主要标志，说明 Snail 可能通过与 E-cad 的结合调控结直肠癌细胞发生 EMT 过程，这就需要建立一个结直肠癌细胞的 EMT 模型，以便动态研究 Snail 与 E-cad 在结直肠癌细胞中的表达关系。故本研究应用 RNAi 技术干扰结肠癌 SW480 细胞中 Snail 的表达后，检测 SW480 细胞中 Snail、E-cad mRNA 显示：与对照组相比，转染组 SW480 细胞 Snail mRNA 表达降低，E-cad mRNA 表达增强，差异有统计学意义，



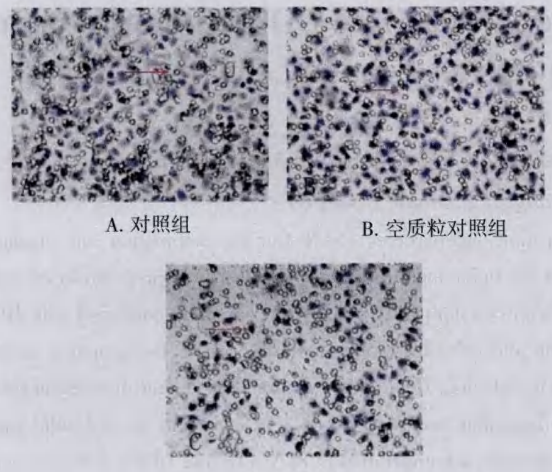
A、B、C. 分别代表对照组、转染组及空质粒组；M. 代表 DNA Marker

图 2　各组结肠癌细胞 SW480 Snail 及 E-cad mRNA 表达水平（$\bar{x}\pm s$）



与对照组相比，□，$P<0.05$

图 3　各组结肠癌细胞 SW480 Snail 及 E-cad mRNA 表达水平（$\bar{x}\pm s$）



A. 对照组　　B. 空质粒对照组

C. 转染组

图 4　各组人结肠癌 SW480（→）细胞穿过 Marigel 胶的情况（HE×200）

而空质粒组无统计学意义；验证了 Snail 能调控 SW480 细胞 EMT 的过程。而基质侵袭实验显示：对照组 233.67±16.56，空质粒组 218.00±14.73，转染组 46.67±7.77，与对照组相比，转染组 SW480 细胞的侵袭力明显下降，差异具有统计学意义；而空质粒组无统计学意义。异质粘附实验显示：对照组 0%，空质粒组(4.71±1.72)%，转染组(70.84±3.91)%。与对照组相比，空质粒组差异无统计学意义，转染组 SW480 细胞异质粘附力明显受到抑制，差异有统计学意义。因此，通过体外细胞学实验我们发现干扰 Snail 的表达，能引起 SW480 细胞 EMT 的逆转，从而使其侵袭力和异质粘附力降低，不利于远处转移。

综上所述，本研究通过免疫组化和体外细胞学实验表明 Snail 能调控结直肠癌细胞 EMT 过程的发生，从而使结直肠癌细胞易于发生侵袭和转移，应用 RNAi 技术干扰 Snail 的表达所建立的体外结肠癌细胞 EMT 模型为研究 Snail 在结直肠肿瘤侵袭和转移中的作用提供理论基础。然而，我们所建立的是体外结肠癌细胞 EMT 模型，而体内体外环境是有巨大差异的，因此我们要进一步研究 Snail 和 EMT 在结直肠癌侵袭和转移中的关系，建立体内结直肠癌细胞 EMT模型将会更加重要也任重而道远。

参 考 文 献

[1] Gos M, Miloszewska J, Przybyszewska M. Epithelial-mesenchymal transition in cancer progression[J]. Posteby Biochemi, 2009, 55(2): 121-128.

[2] Onder T T, Gupta P B, Mani S A, et al. Loss of E-cadherin promotes metastasis via multiple downstream transcriptional pathways[J]. Cancer Research, 2008, 68(10): 3645-3654.

[3] Ray M E, Mehra R, Sandler H M, et al. E-cadherin protein expression predicts prostate cancer salvage radiotherapy outcomes[J]. JUml, 2006, 176(4 Pt 1): 1409-1414.

[4] 张五德，周业江. 上皮间质转化在肿瘤侵袭和转移中的研究进展[J]. 实用医学杂志，2010，26(20)：3832-3834.

[5] Huber M A, Kraut N, Beug H, et al. Molecular requirements for epithelial-mesenchymal transition during tumor progression[J]. Curr Opin Cell Biol, 2005, 17(5): 548-558.

[6] Cano A, Perez-Moreno M A, Rodrigo I, et al. The transcription factor snail controls epithelia1-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin Expression[J]. Nat Cell BioI, 2000, 2(2): 76-83.

[7] Martin T A, Goyal A, Watkins G, et al. Expression of the transcription factors snail, slug, and twist and their clinical significance in human breast cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2005, 12(6): 488-496.

[8] Pena C, Garca J M, Larriba M J, et al. SNAI1 expression in colon cancer related with CDH1 and VDR downregulation in normal adjacent tissue[J]. Oncogene, 2009, 28(49): 4375-4385.

[9] 高维哲，李建明，杨发达，等. 锌指转录因子 Snail 在结直肠癌中的表达及其意义[J]. 南方医科大学学报，2008，28(2)：162-165.

[10] 郑伯安，邓高里，董全进，等. 表皮－钙黏附素和 Snail 蛋白的表达与大肠癌侵袭转移及预后的关系[J]. 中华肿瘤杂志，2010，32(2)：111-116.

（责任编辑：张学颖）