

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2024.01.001

❖ 基础研究 ❖

ADCY6 通过上皮-间质转化抑制结直肠癌细胞增殖、迁移和侵袭

周翼, 黄世贵, 彭洪

(1. 川北医学院第二临床医学院·南充市中心医院肛肠外科, 四川 南充 637000)

【摘要】目的: 探究腺苷酸环化酶亚型 6 (ADCY6) 表达量在结直肠癌 (CRC) 细胞增殖、迁移和侵袭中的作用机制。**方法:** 通过生物信息学数据库分析 ADCY6 在各种肿瘤中的表达情况, 并分析 ADCY6 表达水平与结直肠癌患者不良预后及临床病理特征的关系。使用定量实时逆转录 (RT-qPCR) 和蛋白质免疫印迹 (Western blot) 法检测结直肠癌细胞中 ADCY6 mRNA 和蛋白表达。CCK-8 法检测 ADCY6 对结直肠癌细胞增殖的影响, Transwell 实验用于检测 ADCY6 对细胞迁移和侵袭的影响。将转染 ADCY6 过表达载体的结直肠癌细胞皮下注射到 BALB/c 小鼠中, 构建裸鼠移植肿瘤动物模型, 计算肿瘤体积和质量, 绘制生长曲线。然后在结直肠癌细胞中过表达 ADCY6 检测上皮-间充质转化 (EMT) 关键蛋白的表达以证实 ADCY6 通过抑制 EMT 发挥作用。**结果:** ADCY6 在多种恶性肿瘤中低表达, ADCY6 mRNA 在 CRC 组织中的表达水平降低, 且 ADCY6 蛋白在结肠癌中也低表达。ADCY6 的表达与年龄、肿瘤分期和淋巴结转移相关。ADCY6 在 FHC 细胞中的表达水平高于 CRC 细胞。过表达 ADCY6 可抑制 CRC 细胞的增殖、迁移和侵袭, 且 ADCY6 过表达可抑制肿瘤体积和重量。ADCY6 的上调可导致 EMT 相关的 N-钙粘蛋白、波形蛋白和 Ki-67 的表达水平降低, 同时导致细胞黏附分子的表达水平增高。**结论:** ADCY6 的低表达与 CRC 患者的不良预后有关, 且 ADCY6 可能通过介导 EMT 抑制 CRC 细胞的恶性生物学行为。

【关键词】 结直肠癌; 腺苷酸环化酶亚型 6; 上皮-间充质转化; 增殖; 迁移; 侵袭

【中图分类号】 R735.3 **【文献标志码】** A

ADCY6 suppresses cell proliferation, migration and invasion via epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer

ZHOU Yi, HUANG Shi-gui, PENG Hong

(Department of Anorectal Surgery, Nanchong Central Hospital, the Second Clinical Medical College of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the mechanism of adenylyl cyclase isoform 6 (ADCY6) in suppressing CRC cell proliferation, migration and invasion. **Methods:** The expression of ADCY6 in various tumors was investigated by bioinformatics database analysis. Further analysis of the association among ADCY6 expression levels and poor prognosis and the clinicopathological features of colorectal cancer patients was performed. The expression of ADCY6 mRNA and protein in CRC cells was measured by conducting quantitative real-time reverse-transcription (RT-qPCR) assays and western blotting (WB). A CCK-8 assay was used to detect the effect of ADCY6 on the proliferation of CRC cells. Transwell was used for cell migration and invasion assays. Xenograft tumours were subcutaneously injection of CRC cells transfected with the ADCY6 overexpression vector into the BALB/c mice, the animal model transplantation tumor in nude mice was constructed, tumor volume and mass was calculated and growth curve were drawn. In addition CRC cells were transfected with ADCY6 overexpression vector and the expression of key EMT proteins were tested to confirm ADCY6 play its role by inhibiting EMT. **Results:** The results showed that the expression of ADCY6 was dysregulated in various malignant tumors, and ADCY6 mRNA expression was lower in CRC. Additionally, ADCY6 had lower protein expression in colon cancer tissues. ADCY6 expression was correlated with age, tumor stage and lymph node metastasis. ADCY6 expression levels in FHC cells were higher than those in CRC cells. Overexpression of ADCY6 inhibited the proliferation, migration and invasion of CRC cells, and overexpression of ADCY6 hindered tumor growth, includes tumor volume and weight in vitro. Furthermore, upregulation of ADCY6 resulted in a dramatic decrease in the expression of N-cadherin, vimentin and Ki-67 while contributing to a statistically significant increase in the expression of E-cadherin. **Conclu-**

基金项目: 四川省医学青年创新科研课题计划 (Q22049); 四川省南充市市校合作项目 (22SXQT0069, 22SXQT0070); 川北医学院校级课题 (CBY22-QNA03)

作者简介: 周翼 (1999 -), 男, 硕士研究生。E-mail: 1690724304@qq.com

通讯作者: 彭洪, 博士。E-mail: 1041910523@qq.com

sion: The low expression of ADCY6 is associated with the poor prognosis of CRC patients, and ADCY6 inhibits the malignant biological behaviors of CRC cells by mediating EMT.

【Key words】 Colorectal cancer; Adenylyl cyclase isoform 6; Epithelial mesenchymal transition; Proliferation; Migration; Invasion

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是胃肠道常见的恶性肿瘤,其早期症状并不明显^[1-3],在我国发病率仅次于肺癌和胃癌^[4]。CRC 从癌前病变(腺瘤)到恶性病变的过程较长,是少数能通过筛查早期发现和治疗的恶性肿瘤之一^[4]。腺苷酸环化酶亚型 6 (adenylyl cyclase isoform 6, ADCY6) 基因是一种膜相关酶基因,可催化第二信使环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 形成^[5-6],在正常甲状腺和脑组织中表达,且在功能亢进的甲状腺肿瘤中的表达明显高于正常甲状腺组织^[7]。此外,ADCY6 可通过控制乳腺癌免疫细胞浸润的关键细胞通路调控乳腺癌的恶性进展,其高表达将导致乳腺癌预后较差^[8]。

上皮-间充质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT) 是上皮细胞转化为间充质表型细胞的特定生物学过程^[9],在胚胎发育、慢性炎症、组织重建、肿瘤转移和多种纤维化疾病中发挥着重要作用^[10],以细胞黏附分子 (E-cadherin) 表达下调、细胞角蛋白转化为波形蛋白细胞骨架和间充质细胞为形态特征^[11],进而导致上皮细胞失去细胞极性,丧失与基底膜的连接等上皮表型,最终诱导迁移侵袭、抗凋亡和细胞外基质降解等间充质表型^[9]。目前关于 ADCY6 与 ENT、CRC 的联系研究尚少,本研究拟探讨 ADCY6 与 EMT、CRC 的恶性生物学行为的作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞培养和转染

人正常结肠上皮细胞 (fetal human colon, FHC)、人结肠癌细胞 SW620、SW480、HCT116、人结肠腺癌细胞 LS174T 和人结肠癌细胞 HT29 细胞购自中国科学院细胞库。FHC 和 HT29 细胞在洛斯基·帕克纪念研究所培养基 (RPMI 1640, Gibco) 中培养。SW620 和 SW480 细胞在 Leibovitz's L-15 培养基中 (Gibco) 中培养。HCT116 细胞在添加 10% 胎牛血清的杜氏改良 Eagle 培养基 (DMEM, HyClone; Cytiva) 中培养。LS174T 细胞在最低基本培养基 (MEM, Gibco,) 中培养。使用 LV-ADCY6 (Gene Pharma) 感染 CRC 细胞以过表达 ADCY6,用无义序列的慢病毒载体作为阴性对照。

1.2 生物信息学分析

使用 UALCAN (http://ualcan.path.uab.edu/cgi-bin/ualcan-res.pl) 对 ADCY6 在多种恶性肿瘤及 CRC 中的表达进行分析。用 UALCAN 和 HPA (ht-

tps://www.proteinatlas.org/) 分析 CRC 中 ADCY6 蛋白的表达。UALCAN 也被用于分析 ADCY6 表达水平与临床病理参数的关系。采用 Kaplan-Meier Plotter (http://kmplot.com/analysis/index.php?p=service&cancer=pancancer_rna_seq) 分析 ADCY6 表达与预后的关系。

1.3 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)

用 TRIzol 试剂 (TaKaRa, 日本) 从 70 mg CRC 组织和配对的相邻正常组织中提取总 RNA。同前类似用 TRIzol 试剂提取 CRC 细胞的总 RNA。使用 PrimeScript RT 试剂 (TaKaRa, 日本) 将提取的 RNA 逆转为 cDNA。采用 LightCycler 系统 (Roche) 进行 RT-qPCR。qPCR 热循环条件如下: 97 °C 2min, 92 °C 15 s, 63 °C 34 s, 70 °C 30 s, 循环 40 次。RT-qPCR 引物设计如下: (1) ADCY6, 正引物: 5'-CAG CAG GGT AGT GTG TGC AG -3', 反引物: 5'-TCT GCA TTT GAT TTT GGC CT-3'; (2) GAPDH, 正引物: 5'-TGA CTT CAA CAG CGA CAC CCA-3', 反引物: 5'-CAC CCT GTT GCT GTA GCC AAA-3'。GAPDH 作为内部对照,通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算相对 RNA 表达水平。

1.4 蛋白免疫印迹 (Western blot)

用蛋白质提取缓冲液 (RIPA 裂解缓冲液) 提取 CRC 细胞 (1×10^6 个) 及 CRC 和癌旁组织的总蛋白。10% SDS-PAGE 凝胶分离总蛋白,5% 脱脂奶粉在室温下孵育 1 h。使用抗 ADCY6 (1:2 000, Abcam, USA)、抗 vimentin 波形蛋白 (1:5 000, Abcam, USA)、抗 e-cadherin E 钙粘着蛋白 (1:5 000, Abcam, USA)、抗 n-cadherin N-钙粘蛋白 (1:5 000, Abcam, USA)、抗 ki-67 (1:5 000, Abcam, USA) 和抗 GAPDH 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (1:5 000, Abcam, USA) 在 4 °C 条件下过夜。然后,将膜与适当的二抗孵育。最后,用化学发光试剂 (Hyperfilm ECL, USA) 分析蛋白表达。

1.5 CCK-8 测定细胞增殖情况

将细胞转染后接种到 96 孔板中,加入 CCK-8 检测试剂。记录每孔在 450 nm 处的吸光度以评估细胞增殖情况。

1.6 细胞侵袭和迁移试验

Transwell 腔 (Corning Costar, Cambridge, MA, USA) 用于细胞迁移试验。用不含 FBS 的培养基将细胞转染并播种到上腔室 (1×10^5 个/孔)。在匹配的下室中加入 500 μ L 含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM。孵育 36 h 后将上腔细胞移出,并用甲醇固

定和 0.1% 结晶紫染色。显微镜随机选取每个样本的五个区域进行观测。在 Transwell 室的底膜涂上 Matrigel 溶液进行细胞侵袭试验。

1.7 肿瘤发生实验

5 周龄雄性小鼠购自上海实验动物中心,将 LV-ADCY6 及对照慢病毒载体感染的 HCT116 细胞(2×10^5 个)皮下注射在裸鼠的侧面。肿瘤体积计算公式:体积 = (长度 \times 宽度 \times 高度)/2。注射后 28 d 处死小鼠,收集肿瘤进行分析。动物实验经南充市中心医院伦理委员会批准。

1.8 统计学分析

使用 SPSS 23.0 和 GraphPad Prism version 6.0 软件进行统计分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较使用独立样本 t 检验,多组间比较使用单因素方差分析 (one-way ANOVA); 计数资料以 [n (%)] 表示,组间比较使用 χ^2 检验; 等级资料以频数表示,组间比较使用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异

有统计学意义。

2 结果

2.1 ADCY6 在 CRC 中表达下调,并与临床病理特征相关

ADCY6 在多种恶性肿瘤中表达异常,且 ADCY6 mRNA 在 CRC 组织中的表达水平低于癌旁正常组织。此外,ADCY6 在结肠癌组织中的蛋白表达水平也降低。Kaplan-Meier 生存分析显示,ADCY6 低表达的 CRC 患者总生存期 (OS) 缩短,但与高表达的患者比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。ADCY6 在结肠癌和直肠癌患者中的表达水平与年龄、肿瘤分期和淋巴结转移密切相关。患者年龄越大,ADCY6 mRNA 表达水平越低;与正常组织比较,ADCY6 的 mRNA 表达水平在 1、2、3 和 4 期患者中均降低。有淋巴结转移的 CRC 患者 ADCY6 表达水平低于无淋巴结转移的 CRC 患者。见图 1 及图 2。

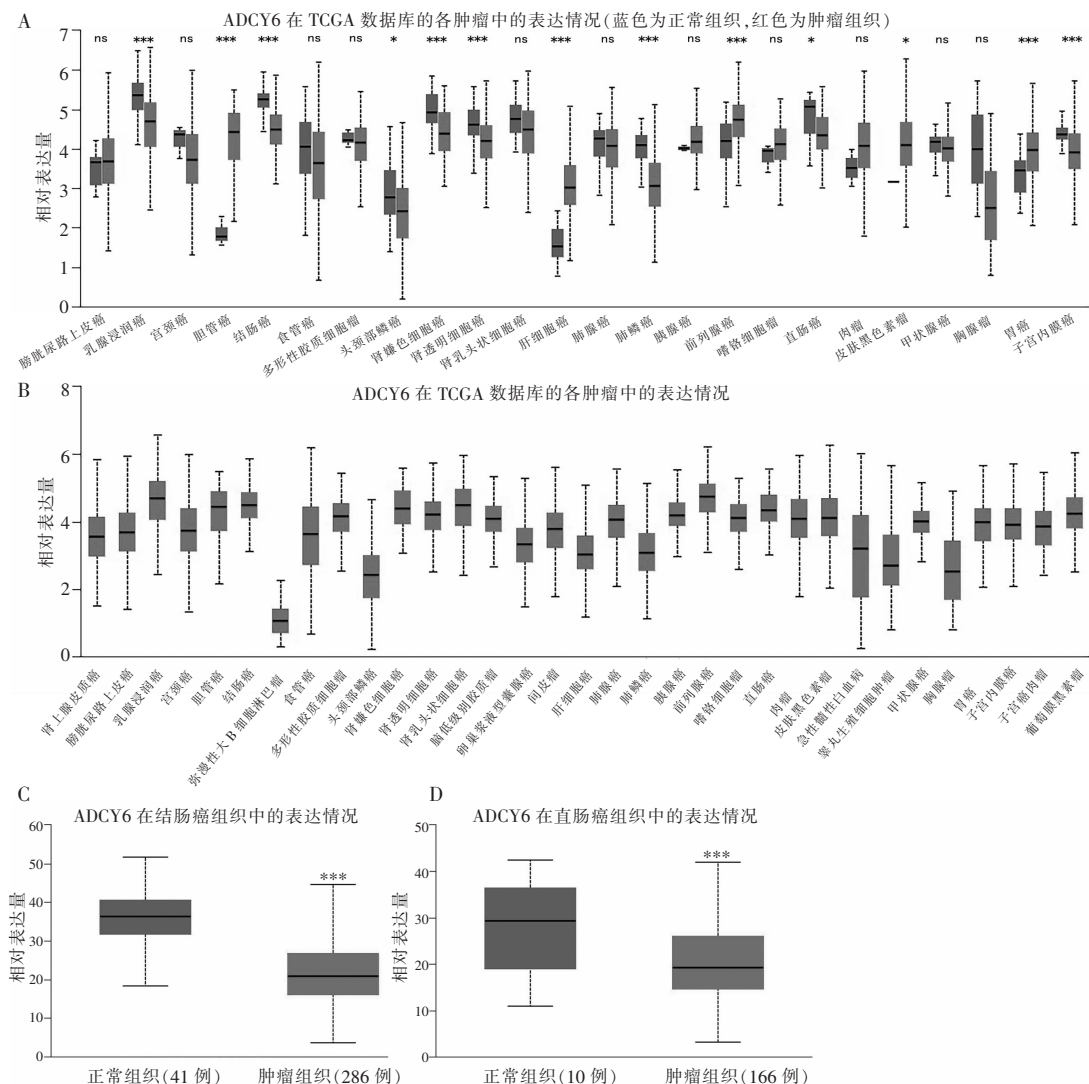


图 1 TCGA 数据库中 ADCY6 在肿瘤中的表达

A. ADCY6 在肿瘤组织和癌旁正常组织中的表达; B. ADCY6 在多种肿瘤组织中的表达; C. ADCY6 在结肠癌中的表达; D. ADCY6 在直肠癌中的表达。ns $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$, 与对照组比较。

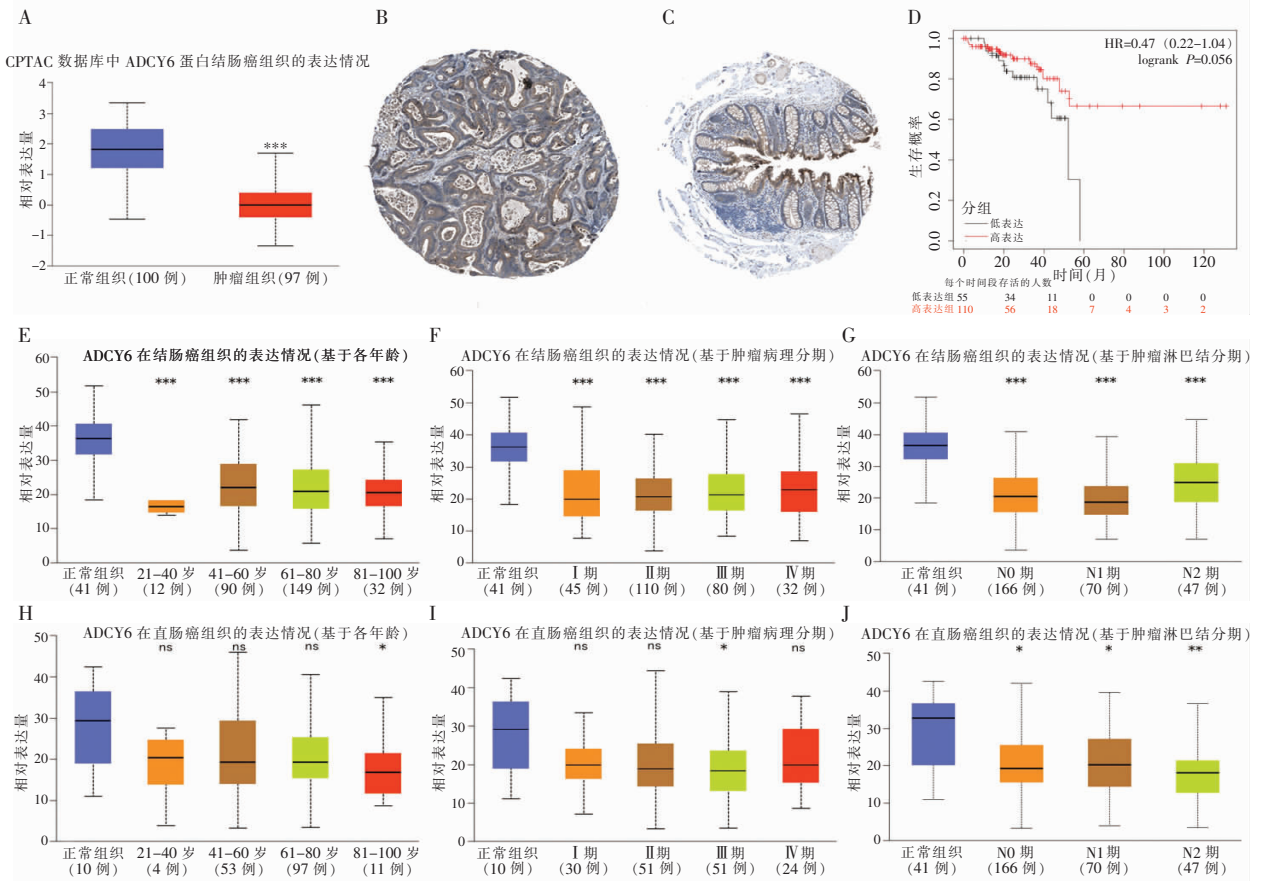


图 2 ADCY6 表达与临床病理特征的相关性

A. ADCY6 在结肠癌中的蛋白表达; B-C. ADCY6 在 CRC 组织及相应的非肿瘤正常组织中的蛋白表达; D. Kaplan-Meier 生存分析; E-G. ADCY6 表达与结肠癌患者年龄、肿瘤分期及淋巴结转移的相关性; H-J. ADCY6 表达与直肠癌患者年龄、肿瘤分期及淋巴结转移的相关性。ns $P>0.05$; * $P<0.05$; ** $P<0.01$; *** $P<0.001$, 与对照组比较。

2.2 ADCY6 过表达可抑制 CRC 的增殖

FHC 细胞中 ADCY6 的表达水平高于 CRC 细胞 (SW620、SW480、HCT116、LS174T 和 HT29), SW620 和 HCT116 细胞中 ADCY6 的表达处于较低水平。转

染 LV-ADCY6 后, SW620 和 HCT116 细胞中 ADCY6 mRNA 和蛋白的表达水平均上升。CCK-8 检测结果显示, 与阴性对照组细胞相比, 过表达 ADCY6 后可下调 SW620 和 HCT116 细胞的增殖水平。见图 3。

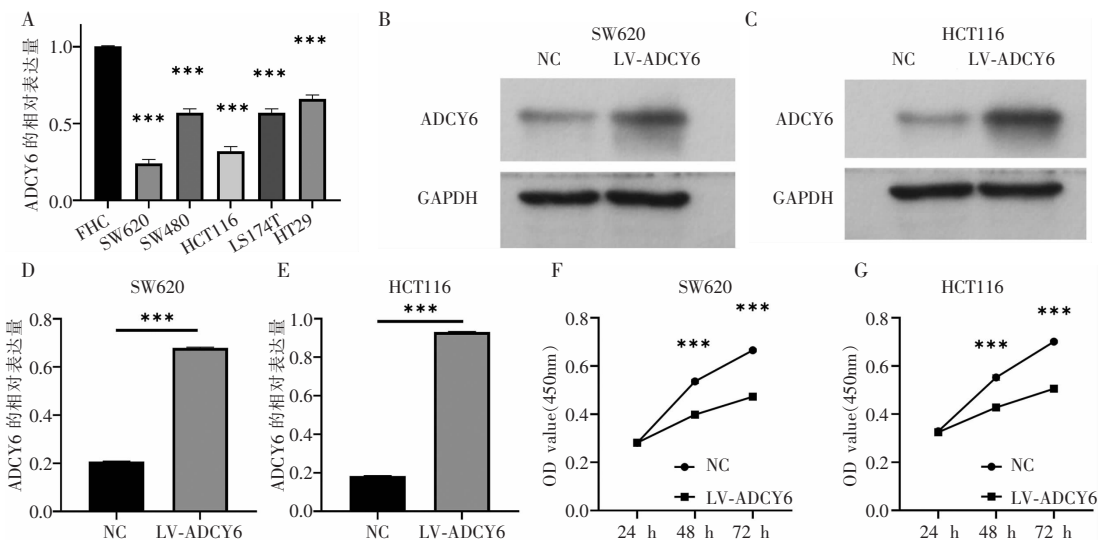


图 3 ADCY6 在 CRC 细胞中的表达水平及其对 CRC 细胞增殖的影响

A. ADCY6 在人正常粘膜细胞和 CRC 细胞 (SW620、SW480、HCT116、LS174T 和 HT29) 中的表达水平; B-C. ADCY6 在 SW620 和 HCT116 细胞中的蛋白表达水平; D-E. ADCY6 在 SW620 和 HCT116 细胞中的 mRNA 表达水平; F-G. CCK-8 法检测过表达 ADCY6 对 HCT116 细胞增殖能力的影响。*** $P<0.001$, 与对照组比较。

2.3 ADCY6 过表达抑制 CRC 的迁移和侵袭能力

与对照组相比,ADCY6 过表达组 SW620 和 HCT116 细胞的迁移能力降低,证实 ADCY6 表达上

调可抑制 SW620 和 HCT116 细胞的迁移能力。此外,过表达 ADCY6 还可抑制 SW620 和 HCT116 细胞的侵袭能力。见图 4。

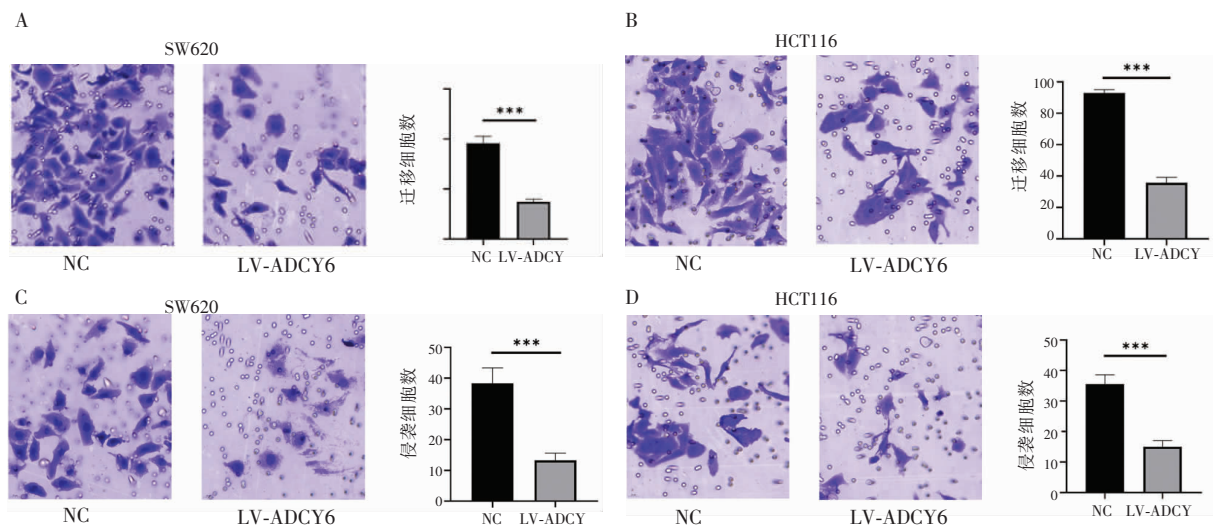


图 4 ADCY6 对 CRC 细胞迁移和侵袭的影响

A. 过表达 ADCY6 对 SW620 细胞迁移能力的影响;B. 过表达 ADCY6 对 HCT116 细胞迁移能力的影响;C. 过表达 ADCY6 对 SW620 细胞侵袭能力的影响;D. 过表达 ADCY6 对 HCT116 细胞侵袭能力的影响。*** $P < 0.001$,与对照组比较。

2.4 ADCY6 过表达抑制 CRC 肿瘤生长

裸鼠皮下移植瘤的体积和重量均降低。见图 5。

过表达 ADCY6 抑制 HCT116 细胞的肿瘤生长,

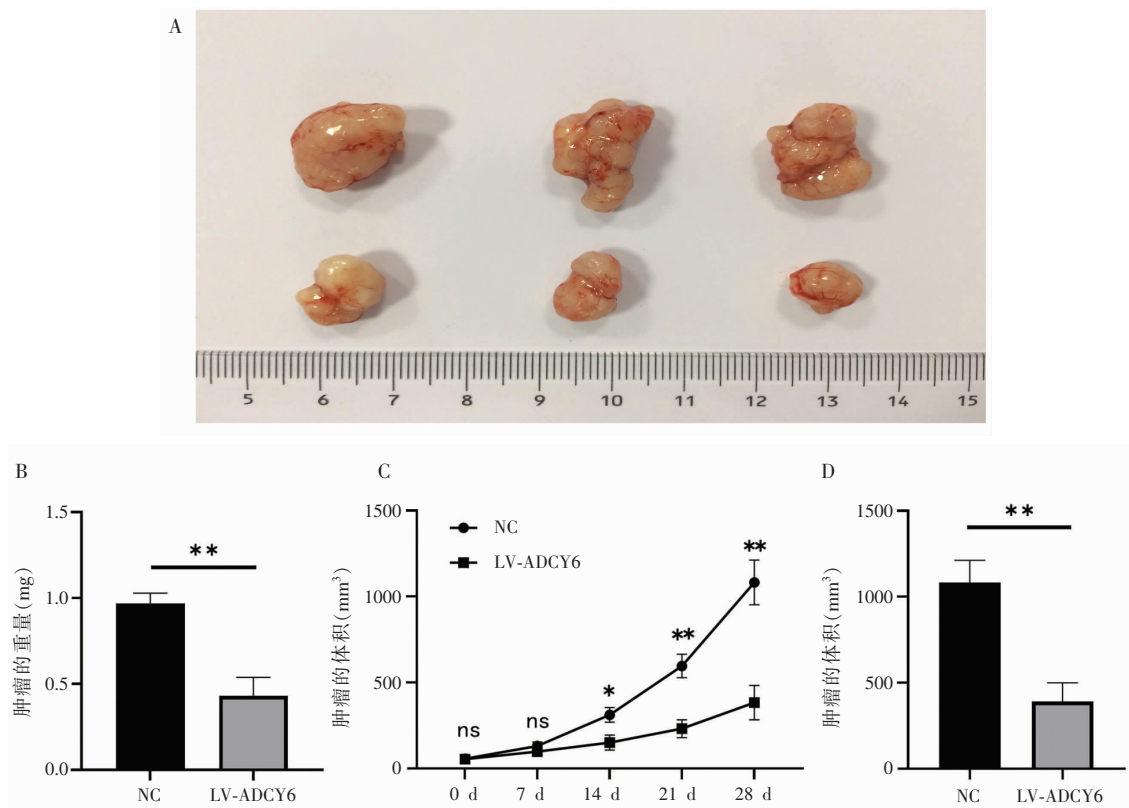


图 5 ADCY6 对 CRC 细胞体内增殖的影响

A. 裸鼠皮下瘤中过表达 ADCY6 后的成瘤效果评价($n=3$);B. ADCY6 对皮下移植瘤重量的影响;C-D. ADCY6 对皮下移植瘤肿块体积的影响。ns $P > 0.05$;* $P < 0.05$;** $P < 0.01$;*** $P < 0.001$,与对照组比较。

2.5 ADCY6 过表达抑制 CRC 细胞的 EMT

ADCY6 对 CRC 细胞的细胞迁移和侵袭能力均有抑制作用。ADCY6 上调可导致 N-cadherin、vim-

entin 和 Ki-67 蛋白表达降低,而 E-cadherin 蛋白在 SW620 和 HCT116 细胞中的表达增加。见图 6。

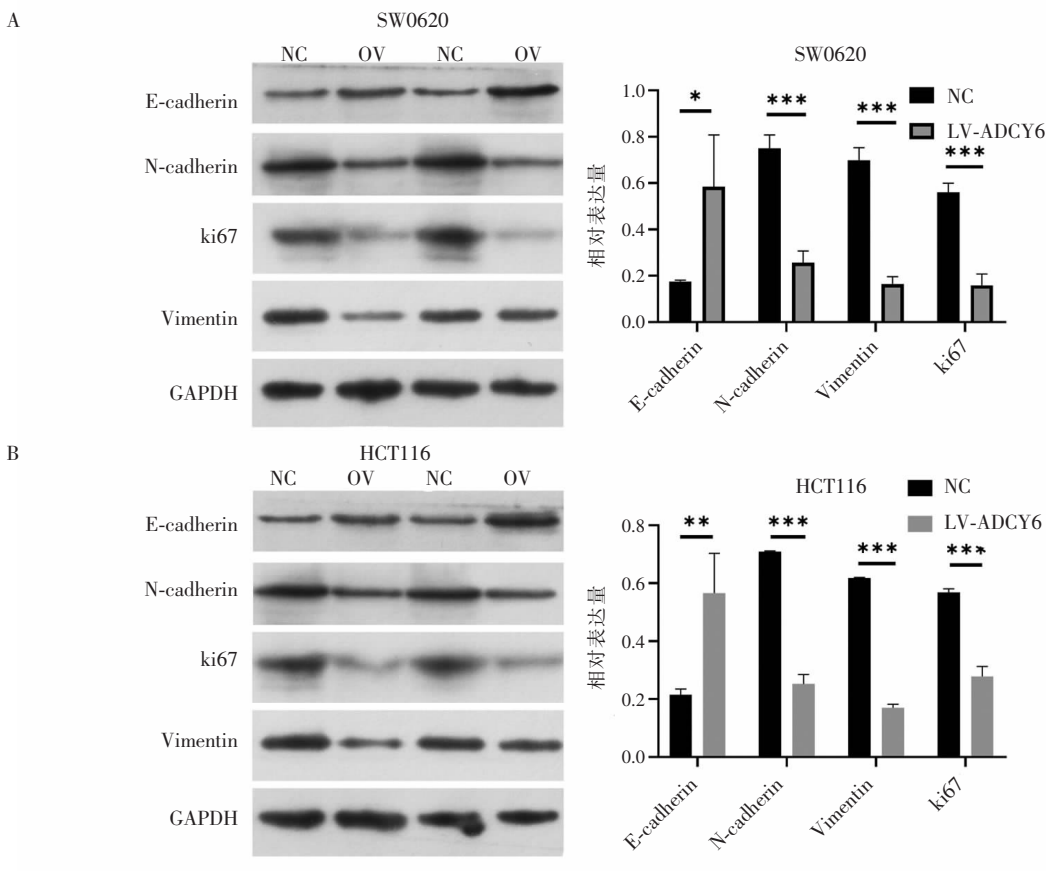


图 6 ADCY6 对 EMT 的影响

A. E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、Ki-67 蛋白在 SW620 细胞中的表达。B. E-cadherin、N-cadherin、Vimentin、Ki-67 蛋白在 HCT116 细胞中的表达。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$, 与对照组比较。

3 讨论

全球每年约有 120 万患者被诊断为 CRC, 超过 60 万患者直接或间接死于 CRC^[12-13]。虽然基因突变是结肠直肠癌发生的一个危险因素, 但大多数结肠直肠癌都是散发的^[14]。目前, 外科手术、新辅助放疗(直肠癌患者)和辅助化疗(III 期、IV 期或高危 II 期结肠癌患者)是 CRC 最主要的治疗策略^[15], I 期患者的 5 年生存率 > 90%, IV 期患者的 5 年生存率略高于 10%^[16]。内窥镜检查或血液筛查可降低 CRC 的发病率和死亡率, 但由于大规模操作难度较高, 大多数国家尚未实施有组织的筛查^[17]。因此, 继续探索和揭示 CRC 发生发展的分子机制至关重要, 为其诊断提供更为便捷、高效的方式。

ADCY6 是膜结合腺苷环化酶家族的一员, 可将三磷酸腺苷转化为 cAMP 和焦磷酸^[18-19], 可为肿瘤细胞生长提供大量能量和生长物质。既往研究^[20]指出, ADCY6 在口腔舌鳞癌中表达水平降低, 可通

过抑制 Hippo 信号通路降低口腔舌鳞癌的恶性生物学行为。但在非小细胞肺癌中, ADCY6 的表达明显增高, miR-542-5p 通过下调 ADCY6 的表达显著抑制非小细胞肺癌的生长和血管生成^[21]。研究表明, ADCY6 在 CRC 中低表达, 且 ADCY6 低表达的患者 OS 略低, 但差异无统计学意义, 这可能是由于样本量较小, 后续仍需加大样本以进一步验证 ADCY6 与 CRC 预后的剂量依赖性。此外, 在结肠癌和直肠癌患者中, ADCY6 的表达与年龄、肿瘤分期和淋巴结转移密切相关。本研究还显示, 过表达 ADCY6 可抑制 CRC 细胞的体外和体内增殖能力, 高表达 ADCY6 降低 CRC 细胞的迁移和侵袭能力, 表明 ADCY6 在 CRC 中扮演着抑癌基因的角色。

EMT 是指上皮细胞在特定生理或病理条件下向间充质细胞转化的过程, 其特征是上皮细胞失去典型的细胞间连接结构, 并且细胞骨架重组, 由多边形变为梭形^[22]。EMT 发生后可出现细胞分离, 上皮细胞中的 E-cadherin 蛋白等上皮标记物表达减

少,功能丧失^[23]。同时 N-cadherin、vimentin 和 Ki67 蛋白等基质细胞标志物表达增强,提高细胞的运动能力,抑制细胞的凋亡^[24],从而促进肿瘤细胞的增殖,迁移和侵袭。EMT 的发生常伴随着结直肠癌细胞迁移和侵袭能力的增强^[25],CRC 恶性进展与 EMT 转录程序的调控激活密切相关^[26]。本研究发现,过表达 ADCY6 可导致 N-cadherin、vimentin 和 Ki-67 蛋白表达显著降低,E-cadherin 蛋白表达则明显增高,证实 ADCY6 可抑制 EMT 过程,ADCY6 可能通过调控 EMT 抑制 CRC 的恶性生物学行为。

综上,ADCY6 可通过调节 EMT 抑制 CRC 细胞的增殖、侵袭和迁移,从而发挥抑癌作用。

参考文献

- [1] Islam MR, Akash S, Rahman MM, *et al.* Colon cancer and colorectal cancer: prevention and treatment by potential natural products [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2022, 368: 110170.
- [2] Cheng V, Oveisi N, McTaggart-Cowan H, *et al.* Colorectal cancer and onset of anxiety and depression: a systematic review and meta-analysis [J]. *Current Oncology*, 2022, 29(11): 8751 – 8766.
- [3] Kim BJ, Hanna MH. Colorectal cancer in young adults [J]. *Journal of Surgical Oncology*, 2023, 127(8): 1247 – 1251.
- [4] Xia C, Dong X, Li H, *et al.* Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends, and determinants [J]. *Chinese Medical Journal*, 2022, 135(5): 584 – 590.
- [5] Jia L, Jiang Y, Li X, *et al.* Pur β promotes hepatic glucose production by increasing Adcy6 transcription [J]. *Molecular Metabolism*, 2020, 31: 85 – 97.
- [6] Lim TB, Aliwarga E, Luu TDA, *et al.* Targeting the highly abundant circular RNA circSle8a1 in cardiomyocytes attenuates pressure overload induced hypertrophy [J]. *Cardiovascular Research*, 2019, 115(14): 1998 – 2007.
- [7] Aladeokin AC, Akiyama T, Kimura A, *et al.* Network-guided analysis of hippocampal proteome identifies novel proteins that colocalize with A β in a mice model of early-stage Alzheimer's disease [J]. *Neurobiology of Disease*, 2019, 132: 104603.
- [8] Wang CCN, Li CY, Cai JH, *et al.* Identification of prognostic candidate genes in breast cancer by integrated bioinformatic analysis [J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2019, 8(8): 1160.
- [9] Manfioletti G, Fedele M. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) 2021 [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(10): 5848.
- [10] Taki M, Abiko K, Ukita M, *et al.* Tumor immune microenvironment during epithelial-mesenchymal transition [J]. *Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 2021, 27(17): 4669 – 4679.
- [11] Zhang N, Ng AS, Cai S, *et al.* Novel therapeutic strategies: targeting epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer [J]. *The Lancet Oncology*, 2021, 22(8): e358 – e368.
- [12] Sinha R. Colorectal cancer [J]. *Clinical Radiology*, 2021, 76(12): 870.
- [13] Nfonsam V, Wusterbarth E, Gong A, *et al.* Early-onset colorectal cancer [J]. *Surgical Oncology Clinics of North America*, 2022, 31(2): 143 – 155.
- [14] Sninsky JA, Shore BM, Lupu GV, *et al.* Risk factors for colorectal polyps and cancer [J]. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, 2022, 32(2): 195 – 213.
- [15] Biller LH, Schrag D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer: a review [J]. *JAMA*, 2021, 325(7): 669 – 685.
- [16] Li N, Lu B, Luo C, *et al.* Incidence, mortality, survival, risk factor and screening of colorectal cancer: a comparison among China, Europe, and northern America [J]. *Cancer Letters*, 2021, 522: 255 – 268.
- [17] Jain S, Maque J, Galoosian A, *et al.* Optimal strategies for colorectal cancer screening [J]. *Current Treatment Options in Oncology*, 2022, 23(4): 474 – 493.
- [18] Halls ML, Cooper DMF. Adenylyl cyclase signalling complexes- Pharmacological challenges and opportunities [J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2017, 172: 171 – 180.
- [19] Robichaux WGR, Cheng X. Intracellular cAMP sensor EPAC: physiology, pathophysiology, and therapeutics development [J]. *Physiological Reviews*, 2018, 98(2): 919 – 1053.
- [20] Yang S, Guo LJ, Liang Y, *et al.* ADCY6 is a potential prognostic biomarker and suppresses OTSCC progression via Hippo signaling pathway [J]. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 2023, 39(10): 978 – 988.
- [21] He RQ, Li XJ, Liang L, *et al.* The suppressive role of miR-542-5p in NSCLC: the evidence from clinical data and in vivo validation using a chick chorioallantoic membrane model [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 655.
- [22] Debnath P, Huiem RS, Dutta P, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition and its transcription factors [J]. *Bioscience Reports*, 2022, 42(1): BSR20211754.
- [23] Fedele M, Sgarra R, Battista S, *et al.* The epithelial-mesenchymal transition at the crossroads between metabolism and tumor progression [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(2): 800.
- [24] Ang HL, Mohan CD, Shanmugam MK, *et al.* Mechanism of epithelial-mesenchymal transition in cancer and its regulation by natural compounds [J]. *Medicinal Research Reviews*, 2023, 43(4): 1141 – 1200.
- [25] Dinicola S, Masiello MG, Proietti S, *et al.* Nicotine increases colon cancer cell migration and invasion through epithelial to mesenchymal transition (EMT): COX-2 involvement [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2018, 233(6): 4935 – 4948.
- [26] Chen P, Li X, Zhang R, *et al.* Combinative treatment of β -elemene and cetuximab is sensitive to KRAS mutant colorectal cancer cells by inducing ferroptosis and inhibiting epithelial-mesenchymal transformation [J]. *Theranostics*, 2020, 10(11): 5107 – 5119.

(收稿日期: 2023-10-03

修回日期: 2023-11-01)