

• 论 著 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.27.001

幽门螺杆菌诱导胃癌细胞上皮-间充质转化的研究*

周法庭^{1,2,3},朱红玲^{1,2},朱 华^{1,2,3},王 毅^{1,2,3},许 俊^{1,2,3},杨振华^{1,2,3△}

(1. 三峡大学第一临床医学院,湖北宜昌 443003;2. 宜昌市中心人民医院急诊科,湖北宜昌 443003;
3. 三峡大学消化疾病研究所,湖北宜昌 443003)

[摘要] **目的** 探讨幽门螺杆菌对胃癌细胞上皮-间充质转化(EMT)的诱导作用。**方法** 设置空白对照组、实验组和阳性对照组,分别以幽门螺杆菌 SS1 菌株和转化生长因子-β(TGF-β)刺激胃黏膜上皮 GES-1 细胞、胃癌 SGC-7901 细胞。采用 Transwell 小室检测细胞纵向迁移能力;Western blot 法测定 EMT 相关蛋白的表达变化规律;荧光共聚焦显微镜观察 β-catenin 的分布变化。**结果** Transwell 实验结果显示经幽门螺杆菌 SS1 菌株刺激后,GES-1 细胞和 SGC-7901 细胞的迁移数目明显多于空白对照组,少于阳性对照组。Western blot 显示幽门螺杆菌 SS1 菌株能抑制 GES-1 细胞和 SGC-7901 细胞 E-钙黏蛋白(E-cadherin)的表达,上调 SGC-7901 细胞 N-cadherin、Twist 和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的表达,但对 GES-1 细胞 N-cadherin 和 Vimentin 的表达水平无明显影响。免疫荧光结果表明未接受刺激的两种细胞的 β-catenin 分布于胞质,而接受幽门螺杆菌 SS1 菌株刺激后 β-catenin 向细胞核移位。**结论** 幽门螺杆菌能诱导胃癌 SGC-7901 细胞发生 EMT,促进胃癌细胞迁移。

[关键词] 胃肿瘤;幽门螺杆菌;上皮-间充质转化;E-钙黏蛋白

[中图法分类号] R735 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)27-3485-05

Helicobacter pylori induces the epithelial-mesenchymal transition of gastric cancer cells*

ZHOU Fating^{1,2,3},ZHU Hongling^{1,2},ZHU Hua^{1,2,3},WANG Yi^{1,2,3},XU Jun^{1,2,3},YANG Zhenhua^{1,2,3△}

(1. First College of Clinical Medical Science,Three Gorges University,Yichang,Hubei 443003,China;
2. Department of Emergency,Yichang Central People's Hospital,Yichang,Hubei 443003,
China;3. Institute of Digestive Disease,Three Gorge's University,Yichang,Hubei 443003,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of Helicobacter pylori (H. pylori) on epithelial-mesenchymal transition(EMT) in gastric cancer cells. **Methods** Three groups were set,including the blank control group,experimental group and positive control group. The GES-1 cells and gastric cancer SGC-7901 cells were stimulated with H. pylori SS1 strain and TGF-β, respectively. The ability of cellular longitudinal migration was detected by Transwell assays. Western blot was used to examine the change rule of EMT-associated protein expression. Moreover,the distributions of β-catenin was observed by fluorescence confocal microscope. **Results**

The Transwell assays results indicated that the migration number of GES-1 cells and SGC-7901 cells after SSI strain stimulation were significantly more than that of the blank control group,and less than that of the TGF-β positive control group. Western blot showed that H. pylori SS1 strain could inhibit the expression of E-cadherin in GES-1 cells and SGC-7901 cells,up-regulated the expression of N-cadherin,Twist and MMP-9 in SGC-7901 cells,while had no obvious effect on the expression of N-cadherin and Vimentin in GES-1 cells. The immunofluorescence assays results demonstrated that β-catenin in the two kinds of cells without receiving the stimulation were distributed in cytoplasm,while β-catenin had the translocation to the nucleus after receiving SSI strain stimulation. **Conclusion** H. pylori can induce the EMT occurrence in gastric cancer SGC-7901 cells, and enhances the migration of gastric cancer cells.

[Key words] gastric neoplasms;H. pylori;epithelial-mesenchymal transition;E-cadherin

胃癌是临床最常见的恶性肿瘤之一,在全球恶性肿瘤排行中胃癌的发病率位居第 5 位,病死率位居第 3^[1]。近年来由于腌制食品摄入减少和胃镜在临床广泛应用,胃癌的病死率有所下降,但是我国仍然是胃

* 基金项目:湖北省宜昌市卫生科研资助项目(A16-301-08)。 作者简介:周法庭(1987—),住院医师,硕士,主要从事急重症救治与肿瘤方面的研究。 △ 通信作者,E-mail:1470942097@qq.com。

癌高发国家^[2]。2012 年我国胃癌死亡总人数达 29.8 万例,男性病死率仅次于肺癌和肝癌,女性病死率仅次于肺癌^[3-4]。胃癌细胞早期发生转移和浸润是导致胃癌患者死亡和治疗失败的根本原因,大量研究证实上皮-间充质转化(epithelial-mesenchy transition, EMT)是调控恶性肿瘤细胞发生转移的主要机制^[5]。

EMT 是机体常见的生物学变化,它参与了组织器官分化、伤口愈合、器官纤维化和肿瘤细胞转移等多种病理生理学过程^[6]。肿瘤细胞发生 EMT 是指上皮来源的肿瘤细胞受多种因素刺激后,丧失上皮特征,获得间充质表型的过程。在这一过程中,肿瘤细胞的许多生物学特征发生改变,包括细胞形态转变成间充质状,骨架发生重塑、细胞连接破坏、极性消失、迁移和侵袭能力显著增强^[7]。在上述变化中,E-钙黏蛋白(E-cadherin)表达的降低被视为肿瘤细胞发生 EMT 的标志性改变。目前,研究发现趋化因子、细胞外基质、转录因子和小分子 RNA 等均可调控肿瘤细胞发生 EMT,如转化生长因子- β (TGF- β)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、Snail 和 miR-203 等^[8]。而在上述化学因子中,有关 TGF- β 的研究最为透彻,常被作为阳性对照。当 TGF- β 和细胞表面的受体结合,形成 T β R II-TGF β -T β RI 复合物,可激活 Smad 2/3-Smad4、Ras-MEK-ERK 和 TRAF-TAK1-JNK 等多条信号轴来调控肿瘤细胞的 EMT 过程。

在体内,胃癌细胞的转移除了受上述化学因子调控外,幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)也是胃癌细胞最主要的生物刺激。Hp 可生成尿素酶、空泡毒素、细胞毒素相关蛋白和黏附素等多种致病因子,持续刺激胃黏膜上皮细胞,引起胃炎、胃溃疡、胃癌和胃黏膜相关淋巴瘤^[9]。对于 Hp 诱发胃癌已成为毋庸置疑的事实,但是能否促使胃癌细胞发生 EMT 却鲜有报道^[10]。本研究拟分析 Hp 刺激后胃癌细胞发生 EMT 的情况,为胃癌转移的治疗提供新方向。

1 材料与方法

1.1 材料 人胃黏膜上皮细胞株 GES-1 和人胃癌细胞株 SGC-7901 均购自中国科学院生物化学与细胞生物研究所,两种细胞株的鉴定和培养在本研究前期工作时顺利完成。幽门螺杆菌 SS1(Sydney Strain 1, SS1)菌株购自 Novagen 公司。胰蛋白酶、RIMP 1640 培养基和 DAPI 核酸性染料均购自 Invitrogen 公司;胎牛血清购自复蒙公司;蛋白提取试剂盒及 ECL 发光试剂盒购自江苏凯吉生物公司;BCA 试剂盒购自碧云天公司。E-cadherin (H-108)、Snail 1(H-130)、MMP-9(6-6B)兔多克隆抗体和 N-cadherin(H-4)、Vimentin (V-9)鼠单克隆抗体购自 Santa Cruz 公司, β -actin 鼠单克隆抗体和 HRP 标记的二抗购自北京中杉金桥。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 将 GES-1 和 SGC-7901 细胞分别接种在 RIMP 1640 完全培养基(10%胎牛血清,100 mg/mL 的链霉素、 1×10^4 U/L 青霉素)常规培养(37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2),待细胞融合度 90%左右,用 2.5%的胰蛋白酶处理至细胞形态变圆后终止消化,传代培养,取对数生长期细胞进行实验研究。

1.2.2 幽门螺杆菌培养 将幽门螺杆菌 SS1 菌株按 1.0%的体积比接种至布氏肉汤液体培养基(含 5%的胎牛血清)中,置于微需氧(37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 和 85% N_2)环境中培养,根据 Hp 菌落数量,绘制生长曲线。参考 HAN 等^[11]的实验方法,取对数期的 SS1 菌株进行实验,离心收集并重悬后,分别加入 GES-1 细胞或 SGC-7901 细胞培养基中。

1.2.3 Transwell 小室检测胃癌细胞纵向迁移 待 SGC-7901 细胞或 GES-1 细胞融合度达到 90%时,以胰酶消化后,进行计数和稀释,将悬液中细胞数目调整为 2×10^5 个/mL。分别取 200 μL 的 SGC-7901 细胞或 GES-1 细胞悬液接种于 Transwell 上室,设置空白对照组、阳性对照组(TGF- β)和实验组(幽门螺杆菌 SS1 菌株),Transwell 小室放置于 24 孔板的小孔中。然后取 600 μL 不含血清的 RIMP 1640 培养基加入 Transwell 下室,阳性对照组和实验组分别加入 TGF- β (终浓度 5 ng/mL)和幽门螺杆菌 SS1 菌株(最终 MOI 为 500),空白对照组加入等体积的不含血清的 RIMP 1640 培养基,放回 CO_2 孵箱中,培养 2 h^[12]。取出并弃去原有培养基,分别经 PBS 洗涤、多聚甲醛固定后,用 0.1% 结晶紫染色 20 min 后。倒置显微镜下观察细胞迁移情况,随机选取 5 条直径,沿每条直径随机取 5 个视野拍照,统计穿过 Transwell 小室的细胞数。

1.2.4 Western blot 检测 EMT 相关蛋白的表达 按照 1.2.1 传代和培养 SGC-7901 细胞或 GES-1 细胞,两种细胞均设置空白对照组、阳性对照组和实验组,阳性对照组和实验组分别加入 TGF- β 和幽门螺杆菌 SS1 菌株,终浓度分别为 5 ng/mL 和 500 MOI。放入 CO_2 孵箱中培养,2 h 后以 RIPA 裂解液收集总蛋白,经 BCA 法定量、变性、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜和封闭后,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育相应一抗(1:200)。再经 TBST 洗涤、孵育二抗(1:5 000)、洗涤后,采用增强化学发光法(enhanced chemiluminescence, ECL)在凝胶成像仪(ChemiDocTM XRS & Image LabTM, 美国 Bio-Rad 公司)中检测蛋白的表达变化。

1.2.5 免疫荧光法检测 β -catenin 的分布 按照 1.2.3 处理 SGC-7901 细胞或 GES-1 细胞,培养 2 h 后,经 PBS 液洗涤、4%多聚甲醛固定和 1%BSA 封闭后,加入 β -catenin 一抗(1:200)过夜孵育。次日 PBS

洗涤后,37℃避光孵育荧光二抗(1:100),1 h 后加入 DAPI(1:400),37℃避光孵育 15 min。PBS 洗涤后甘油封片,立即在激光共聚焦荧光显微镜(Leica TCS SP5,Germany)下观察 β -catenin 的分布。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 one-way ANOVA 法分析,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 幽门螺杆菌对胃癌细胞迁移的影响 在空白对照组中,穿过 Transwell 小室的 GES-1 细胞为 (116.4 ± 23.5) 个。而实验组穿过 Transwell 小室的 GES-1 细胞数目增至 (170.2 ± 36.7) 个,二者比较,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 1A。阳性对照组穿过 Transwell 小室的 GES-1 细胞为 (241.5 ± 47.3) 个,明显多于实验组。对于胃癌细胞 SGC-7901 出现类似的变化趋势,TGF- β 刺激后 SGC-7901 细胞迁移数目增加到 (384.6 ± 85.2) 个。而幽门螺杆菌刺激 SGC-7901 细胞后,迁移数目由 (231.9 ± 51.0) 个上升到 (318.5 ± 68.1) 个,两组比较,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 1B、C。

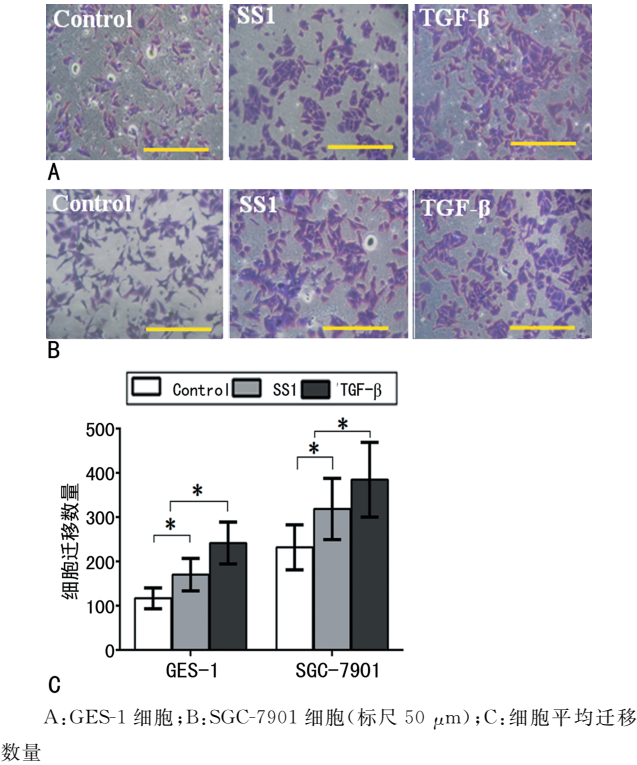


图 1 幽门螺杆菌对细胞迁移的影响

2.2 幽门螺杆菌对胃癌细胞 E-cadherin 和 N-cadherin 表达的影响 由图 2 可知,幽门螺杆菌 SS1 菌株刺激 GES-1 细胞和 SGC-7901 细胞后,E-cadherin 表达量均明显降低。在 GES-1 细胞中,实验组(SS1) E-cadherin 的相对表达量是空白对照组的 (0.732 ± 0.063) 倍,二者比较,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 2B;而与阳性对照组比较,差异无统计学

意义($P>0.05$)。SGC-7901 细胞 E-cadherin 变化趋势与 GES-1 细胞相似,幽门螺杆菌 SS1 菌株作用后,E-cadherin 的相对表达量下降至 0.741 ± 0.135 ,而阳性对照组的 E-cadherin 相对表达量为 0.622 ± 0.091 ,两组比较,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与 E-cadherin 变化趋势不同,幽门螺杆菌 SS1 菌株刺激 GES-1 细胞后 N-cadherin 的表达量无明显变化($P>0.05$),而刺激 SGC-7901 细胞后,N-cadherin 相对表达量上升至 1.32 ± 0.165 ,高于空白对照组。而阳性对照组为 1.28 ± 0.057 ,与实验组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

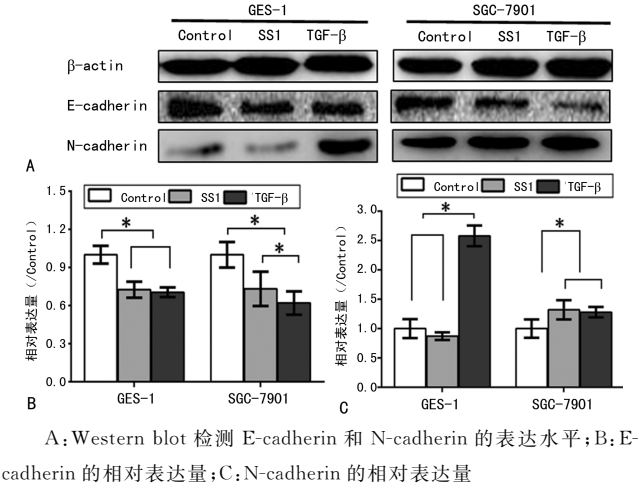
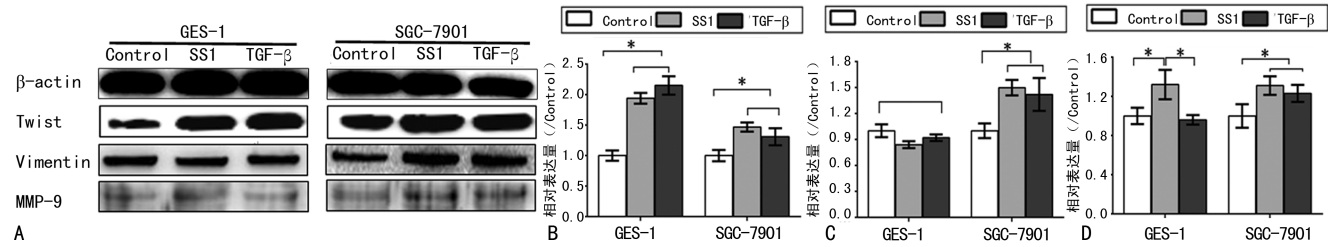


图 2 幽门螺杆菌对 E-cadherin 和 N-cadherin 表达影响

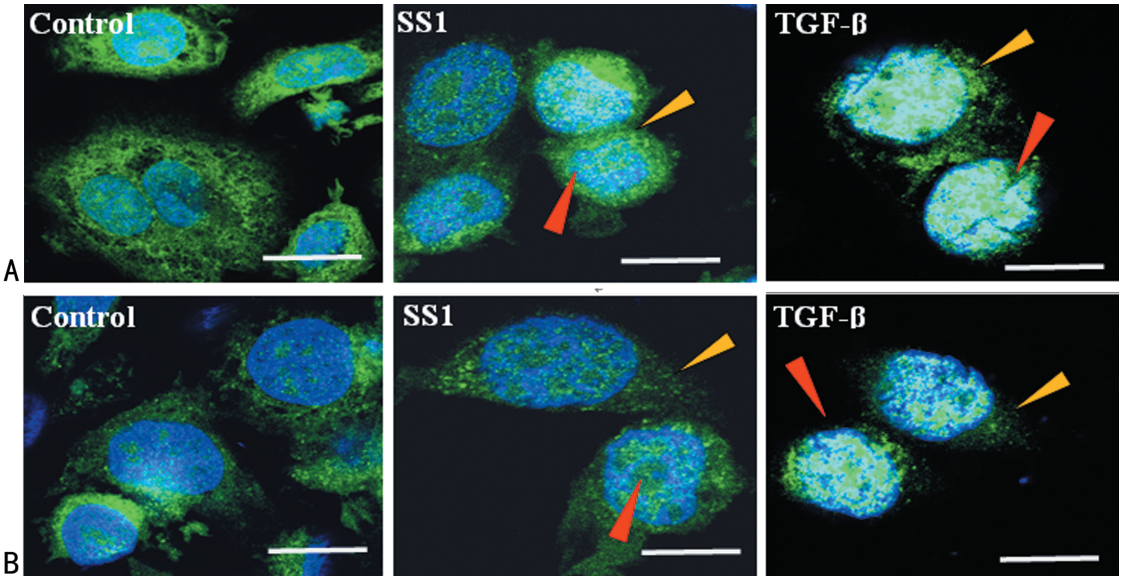
2.3 幽门螺杆菌对胃癌细胞间充质蛋白表达的影响 以幽门螺杆菌作用于 GES-1 细胞后, Twist 的相对表达量显著增加,是空白对照组的 (1.94 ± 0.091) 倍,二者比较,差异具有统计学意义($P<0.05$),而阳性对照组相对表达量为 2.15 ± 0.15 ,与实验组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。在 SGC-7901 细胞的 Twist 的变化和 GES-1 细胞相似,幽门螺杆菌作用 SGC-7901 细胞后, Twist 的表达水平显著增加,但与实验组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。与 Twist 变化趋势不同,幽门螺杆菌和 TGF- β 作用于两种细胞后, GES-1 细胞 Vimentin 相对表达量无明显变化,而 SGC-7901 细胞中实验组和阳性对照组显著增加,分别为空白对照组的 (1.48 ± 0.86) 倍和 (1.42 ± 0.91) 倍,两组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。GES-1 细胞接受幽门螺杆菌刺激后, MMP-9 的表达量均高于空白对照组和阳性对照组。而 SGC-7901 细胞中实验组和阳性对照组 MMP-9 的表达水平均出现明显上升,且二者比较,差异无统计学院意义($P>0.05$),见图 3。

2.4 幽门螺杆菌对胃癌细胞 β -catenin 分布的影响 经幽门螺杆菌 SS1 菌株刺激后, GES-1 细胞和 SGC-7901 细胞膜上的 β -catenin 显著减少(黄色箭头),而细胞核中的 β -catenin 明显增加(红色箭头),且分布变化趋势与对应的阳性对照组相似,见图 4。



A: Western blot 检测间充质蛋白的表达水平; B: Twist 相对表达量; C: Vimentin 的相对表达量; D: MMP-9 的相对表达量

图 3 幽门螺杆菌对间充质蛋白的表达影响



A: GES-1 细胞; B: SGC-7901 细胞 (标尺 5 μ m)

图 4 幽门螺杆菌对胃癌细胞 β -catenin 分布的影响

3 讨 论

幽门螺杆菌是一类黏附于胃幽门的微需氧型革兰阴性菌,与胃癌和胃黏膜相关淋巴瘤的发生发展密切相关,已被 WHO 视为第一类生物致癌因子^[13]。国内外关于幽门螺杆菌的研究主要集中于胃炎和胃癌的致病机制,而忽视了它对胃癌细胞生物学行为的作用。幽门螺杆菌的致病因子有尿素酶、空泡毒素、细胞毒素相关蛋白和黏附素,此外它还可刺激机体释放环氧化酶(COX)、白细胞介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等炎症因子。其中,细胞毒素相关蛋白 Cag 是幽门螺杆菌最重要致病因子。据 CagA 可将幽门螺杆菌分为 CagA⁺ 和 CagA⁻ 两大类,阳性菌株的毒力远超过阴性菌株。Cag 和上述致病因子不仅能诱导胃黏膜细胞发生癌变,而且能调控胃上皮细胞的增殖和凋亡^[14]。幽门螺杆菌能刺激 G 细胞分泌胃泌素,并且与其受体 CCK- β 结合,促进上皮细胞增殖。研究发现幽门螺杆菌可通过双重方式调控上皮细胞凋亡。一方面,幽门螺杆菌与宿主上皮细胞结合后,释放前列腺素,激活 PPAR γ ,抑制细胞凋亡^[15]。而另一方面,幽门螺杆菌还会分泌尿素酶和空泡毒素,活化 Caspase-3 或 FAS,促进凋亡^[16]。

近年来不少学者证实幽门螺杆菌可影响胃癌细

胞的转移,诱导胃癌细胞发生上皮-间充质转化。CagA 能诱导胃上皮细胞酪氨酸磷酸化和骨架重排,诱导机体释放炎症因子,进而促进细胞迁移。O'CONNOR 等^[17]发现幽门螺杆菌感染的患者血清可溶性 E-cadherin 的水平明显低于健康人群,而感染 CagA⁺ 菌株的患者可溶性 E-cadherin 明显低于 CagA⁻ 菌株患者。与 O'CONNOR 的研究相似,YIN 等^[18]分别以 Hp. 60190(CagA⁺) 和 Hp. Tx30a(CagA⁻) 菌株刺激 AGS 细胞,发现前者刺激后 AGS 细胞的 Snail 1、Slug 和 Vimentin 的 RNA 水平明显高于后者。幽门螺杆菌还可分泌 TNF- α 调节蛋白(TNF- α induced proteins, TIP α),活化 MEK/ERK 信号途径,抑制 MKN-1 细胞 Vimentin 的表达,促进细胞形态发生改变和丝状伪足的形成,诱导胃癌细胞发生 EMT^[19]。关于幽门螺杆菌诱导胃癌细胞发生 EMT 机制仍不清楚,最近有研究发现 CagA 的羧基末端能与 SHP2 和 PAR1/MARK2 结合,使谷氨酸-脯氨酸-异亮氨酸-酪氨酸-丙氨酸(EPIYA)模体磷酸化,导致细胞表型转换。但 LEE 等^[20]发现幽门螺杆菌可抑制 GSK-3 表达,进而上调 Snail 和 Snail 和 β -catenin 表达,诱导胃癌细胞发生 EMT。Hp. SS1 菌株是由澳大利亚 LEE 团队驯化而来,是 CagA⁺ 和 VacA⁺ 菌株,具有很强的

黏附能力^[21]。本研究以 Hp. SS1 菌株分别刺激胃癌和胃上皮细胞,分析胃癌细胞迁移能力及 EMT 相关标志物的变化。结果发现 Hp. SS1 菌株使胃癌细胞的 β -catenin 向核内易位,抑制 E-cadherin 的表达,促进 N-cadherin、Twist 和 MMP-9 的表达,促进胃癌细胞的迁移。本研究在 YIN 等^[18]研究基础上,通过体外模拟幽门螺杆菌与胃癌细胞的相互作用,并与趋化因子 TGF- β 相比较,证实了幽门螺杆菌可诱导胃癌细胞发生 EMT。最近 CHOI 等^[22]发现早期为患者行幽门螺杆菌根除治疗,患者的 Twist、Snail、Slug 和 Vimentin 的 mRNA 水平下降,而 E-cadherin 的 mRNA 水平上升。由此可知,对于合并幽门螺杆菌感染的胃癌患者行幽门螺杆菌根除治疗不仅能改善患者症状,还可能会抑制胃癌细胞转移。

参考文献

- [1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide; sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5):359-386.
- [2] AMIRI M, JANSSEN F, KUNST A E. The decline in stomach cancer mortality: exploration of future trends in seven European countries [J]. *Euro J Epidemiol*, 2011, 26(1):23-28.
- [3] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2):115-132.
- [4] 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 等. 中国胃癌流行病学现状 [J]. *中国肿瘤临床*, 2017, 44(1):52-58.
- [5] KATO H M. Epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer (Review) [J]. *Int J Oncol*, 2005, 27(6):1677-1683.
- [6] QI X L, ZHANG L, LU X J. New insights into the epithelial-to-mesenchymal transition in cancer [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2016, 37(4):246-248.
- [7] KALLURI R, WEINBERG R A. The basics of epithelial-mesenchymal transition [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(6):1420-1428.
- [8] HA B, KO H, KIM B, et al. Regulation of crosstalk between epithelial to mesenchymal transition molecules and MMP-9 mediates the antimetastatic activity of anethole in DU145 prostate cancer cells [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(1):63-69.
- [9] LIANG J, LIANG L Z, OUYANG K, et al. MALATI induces tongue cancer cells' EMT and inhibits apoptosis through Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *J Oral Pathol Med*, 2017, 46(2):98-105.
- [10] TIMOTHY L C. Helicobacter pylori diversity and gastric cancer risk [J]. *Mbio*, 2016, 7(1):1869-1885.
- [11] HAN Y, ZENG J, LIANG X, et al. Helicobacter pylori promotes epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer by downregulating programmed cell death protein 4 (PDCD4) [J]. *PLoS One*, 2013, 9(8):105306-105310.
- [12] NAGY T A, FREY M R, FANG Y, et al. Helicobacter pylori regulates cellular migration and apoptosis by activation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling [J]. *J Infect Dis*, 2009, 199(5):641-651.
- [13] BORNSCHEIN J, MALFERTHEINER P. Helicobacter pylori and gastric cancer [J]. *Dig Dis*, 2014, 32(3):249-264.
- [14] YAMAOKA Y. Mechanisms of disease: Helicobacter pylori virulence factors [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2010, 7(11):629-641.
- [15] PEEK R M, BLASER M J. Helicobacter pylori and gastrointestinal tract adenocarcinomas [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(1):28-37.
- [16] FAN X. Helicobacter pylori urease binds to class II MHC on gastric epithelial cells and induces their apoptosis [J]. *J Immunol*, 2000, 165(4):1918-1924.
- [17] O'CONNOR P M, LAPOINTE T K, JACKSON S A, et al. Helicobacter pylori activates calpain via toll-like receptor 2 to disrupt adherens junctions in human gastric epithelial cells [J]. *Infect Immun*, 2011, 79(10):3887-3894.
- [18] YIN Y F, GRABOWSKA A M, CLARKE P A, et al. Helicobacter pylori potentiates epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer: links to soluble HB-EGF, gastrin and matrix metalloproteinase-7 [J]. *Gut*, 2010, 59(8):1037-1045.
- [19] WATANABE T, TAKAHASHI A, SUZUKI K A, et al. Epithelial-mesenchymal transition in human gastric cancer cell lines induced by TNF- α -inducing protein of Helicobacter pylori [J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(10):2373-2382.
- [20] LEE D G, KIM H S, LEE Y S, et al. Helicobacter pylori CagA promotes Snail-mediated epithelial-mesenchymal transition by reducing GSK-3 activity [J]. *Nat Commun*, 2014, 5(5):4423-4435.
- [21] LEE A, OROURKE J, DEUNGRIA M C, et al. A standardized mouse model of Helicobacter pylori infection: Introducing the sydney strain [J]. *Gastroenterology*, 1997, 112(4):1386-1397.
- [22] CHOI Y J, KIM N, CHANG H, et al. Helicobacter pylori-induced epithelial-mesenchymal transition, a potential role of gastric cancer initiation and an emergence of stem cells [J]. *Carcinogenesis*, 2015, 36(5):553-563.

(收稿日期:2018-02-18 修回日期:2018-05-16)