异泽兰黄素调节 Notch 1/Hes 信号通路对宫颈癌细胞迁移和侵袭的影响

李 辉[1]，李二虎[2]，柳书勤[1]，殷敏敏[1]
（1. 中国人民武装警察部队河南省总队医院妇产科，河南郑州 450052；2. 安阳市肿瘤医院妇产科，河南安阳 455001）

摘要：目的 探讨异泽兰黄素对人宫颈癌（cervical cancer，CC）细胞迁移和侵袭的影响及对 Notch 信号通路的调节作用。**方法** 培养人 CC 肠转移细胞系 Caski 细胞，将其分为空白对照（BC）组、阴性对照（NC）组、异泽兰黄素（Eupatilin）组、Notch 1 过表达（Notch 1）组及异泽兰黄素＋Notch 1 过表达（Eupatilin+Notch 1）组。MTT 法检测细胞活力；划痕愈合实验与 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭情况；蛋白质印迹法检测细胞中上皮间质转化（epithelial–mesenchymal transition，EMT）和 Notch 信号通路相关蛋白水平。**结果** 与 NC 组相比，Eupatilin 组细胞活力、迁移、侵袭能力以及细胞中 N-cadherin、Snail、Notch 1、Hes-1 及 Hes-5 蛋白水平均降低，细胞中 E-cadherin 蛋白水平增高（$P < 0.05$）；Notch 1 组以上各指标变化与 Eupatilin 组呈相反的效果（$P < 0.05$）。Notch 1 过表达逆转异泽兰黄素对 Caski 细胞活力、迁移、侵袭以及 Notch 信号通路的影响（$P < 0.05$）。**结论** 异泽兰黄素通过 Notch 1/Hes 信号通路抑制人 CC 细胞迁移和侵袭，该研究为人类 CC 的临床治疗提供一些新的线索。

关键词：异泽兰黄素；宫颈癌；Notch 1；Hes-1；Hes-5；迁移；侵袭
中图分类号：R737.33 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188(2023)08-0791-07
DOI：10.13683/j.wph.2023.08.005

The effects of Eupatilin on the migration and invasion of cervical cancer cells by regulating Notch 1/Hes signaling pathway

LI Hui[1], LI Erhu[2], LIU Shuqin[1], Yin Minmin[1]
(*1. Department of Obstetrics and Gynecology, the Chinese People's Armed Police Force of Henan Provincial General Hospital, Zhengzhou 450052, Henan Province,China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology,Anyang Cancer Hospital, Anyang 455001, Henan Province,China*)

Abstract: ***Objective*** To investigate the effects of Eupatilin on the migration and invasion of human cervical cancer (CC) cells and its regulation on Notch signaling pathway. ***Methods*** The Caski cells, a human CC intestinal metastasis cell line, were cultured and divided into blank control (BC) group, negative control (NC) group, Eupatilin group, Notch 1 overexpression (Notch 1) group , Eupatilin and Notch 1 overexpression (Eupatilin + Notch 1) group. MTT method was performed to measure the viability of cells. Scratch healing test and Transwell test were performed to measure the migration and invasion of cells. Western blot was performed to measure the levels of epithelial-mesenchymal transition (EMT) and Notch signaling pathway-related proteins in cells. ***Results*** Compare with the NC group, the cell viability, migration and invasion abilities, N-cadherin, Snail, Notch 1, Hes-1 and Hes-5 protein levels in Eupatilin group were decreased, and the E-cadherin protein level was increased ($P<0.05$). The changes of the above indexes in Notch 1 group were opposite to those in Eupatilin group ($P<0.05$). The overexpression of Notch 1 reversed the effects of Eupatilin on the viability, migration and invasion of Caski cells and the Notch signaling pathway ($P<0.05$). ***Conclusion*** Eupatilin inhibits the migration and invasion of human CC cells through Notch 1/Hes signaling pathway, which may provide some new clues for the clinical treatment of human CC.

Key words: eupatilin; cervical cancer; Notch 1; Hes-1; Hes-5; migration; invasion

收稿日期：2022-02-11
作者简介：李辉，主治医师，研究方向：卵巢肿瘤方面。
基金项目：安阳市科技攻关项目(ky3-1-11)

宫颈癌（cervical cancer，CC）是常见妇科恶性肿瘤之一。超过100种人乳头瘤病毒（human papillomavirus，HPV）基因型已被鉴定，某些高危型HPV的持续感染被认为是CC发生的主要原因。近年来，细胞学联合HPV筛查已成为降低CC发病率的有效策略。然而，CC患者的预后和5年生存率仍然令人不满意[1—2]。因此，研发更有效的治疗新药至关重要。

异泽兰黄素是从菊科植物艾叶中提取的具有药理活性的黄酮类化合物，近年来，异泽兰黄素的抗肿瘤作用在多种人类恶性肿瘤中逐渐被报道[3]。近期一项研究表明，异泽兰黄素可呈时间和剂量依赖性地降低前列腺癌细胞的活力，同时抑制细胞的迁移、侵袭，促进凋亡[4]。此外，已有研究证明异泽兰黄素通过促进CC细胞系HeLa和Caski细胞凋亡和细胞周期停滞来抑制增殖；同时，裸鼠实验证实，异泽兰黄素可抑制体内肿瘤生长[5]。然而，异泽兰黄素在CC细胞迁移、侵袭中的作用机制还未见报道。

Notch信号通路在进化过程中高度保守，哺乳动物中有4种Notch受体亚型，即Notch 1、Notch 2、Notch 3及Notch 4。据报道，Notch信号通路不仅在胚胎发育的调控中发挥重要作用，且对恶性肿瘤的发生和进展亦具有关键作用[6]。异泽兰黄素是否会影响CC中Notch信号通路水平，目前尚未有相关研究。故在本研究中拟探讨异泽兰黄素对人CC细胞迁移和侵袭的影响及对Notch信号通路的分子调控机制，以期为CC的临床治疗提供新的线索及选择。

1 材料和方法

1.1 材料

人CC肠转移细胞系Caski细胞（YS1446C）购自美国ATCC；胎牛血清（fetal bovine serum，FBS）、DEME培养基（10099141、12634010）购自美国Gibco BRL；抗生素抗霉菌溶液（100×，A5955）购自Sigma Chemical；pcDNA3.1质粒（YS2941）购自上海雅吉生物；异泽兰黄素（纯度≥97%HPLC，E4660）购自Sigma-Aldrich Biotechnology；MTT细胞增殖检测试剂盒（SY0894）购自北京YITA；Transwell小室（3422）购自美国Corning；Matrigel、RIPA裂解缓冲液（M8370、R0010）购自北京Solarbio；抗E-cadherin、抗N-cadherin、抗Snail、抗Notch 1、抗Notch 2、抗Notch 3、抗Hes-1、抗Hes-5及抗β-肌动蛋白抗体（ab40772、ab76011、ab216347、ab280898、ab118824、ab23426、ab108937、ab194111和ab198991）均购自英国Abcam；ECL蛋白质印迹底物试剂盒（K820-50）购自美国Biovision。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与分组

Caski细胞培养在补充有10% FBS、1%抗生素的DEME培养基中，保持在5%二氧化碳的湿润气氛的37 ℃培养箱中。每两日更换1次培养基，细胞生长至对数期用于后续实验。

将Caski细胞以5×10^4个/孔接种在6孔板中培养，然后使用Lipofectamin 2000制造商说明书进行分组处理。将细胞分为空白对照（BC）组、阴性对照（NC）组、异泽兰黄素（Eupatilin）组、Notch 1过表达（Notch 1）组及异泽兰黄素＋Notch 1过表达（Eupatilin ＋ Notch 1）组。BC组Caski细胞不做任何处理；NC组Caski细胞转染pcDNA3.1后使用含0.1% DMSO的培养基处理；Eupatilin组Caski细胞使用40 μmol/L的Eupatilin处理后使用含0.1% DMSO的培养基处理[5]；Notch 1组Caski细胞转染Notch 1过表达质粒后使用含0.1% DMSO的培养基处理；Eupatilin ＋ Notch 1组Caski细胞转染Notch 1过表达质粒后使用40 μmol/L的Eupatilin处理后使用含0.1% DMSO的培养基处理。所有细胞均处理48 h。

1.2.2 MTT法测定Caski细胞活力

将Caski细胞接种在96孔培养板中（5×10^4个/孔），按照上述分组方法处理各组Caski细胞。处理后将所有Caski细胞与10 μl MTT溶液（5 mg/mL）在37 ℃下孵育4 h。除去培养基，然后在每个孔中

加入 100 μl DMSO 并在室温下振摇 10 min，使用酶标仪在 570 nm 波长处测量光密度（optical density，OD）以确定细胞活力。

1.2.3 划痕愈合实验测定 Caski 细胞迁移

将按照上述分组方法处理的 Caski 细胞以 6×10^4 个 / 孔的密度接种在 6 孔培养板，使用无菌的 10 μl 移液器吸头在细胞单层中产生线性划痕，使用 PBS 洗涤细胞以去除碎片，并用无血清的培养基以 1 ∶ 1 比例替换培养基。在孵育之前和之后的 24 h，在光学显微镜下捕获图像。

1.2.4 Transwell 实验测定 Caski 细胞侵袭

Transwell 小室上室表面使用 Matrigel 预涂后在 37 ℃放置 1 h 干燥备用。将按照上述分组处理的 Caski 细胞以 2×10^4 个 / 孔的密度接种在 Transwell 小室上室中培养，将补充有 10% FBS 的完全培养基（500 μl）加入到下室。37 ℃孵育 24 h 后，上膜上残留的细胞被擦去，穿过膜侵入的细胞在室温下分别使用 4% 多聚甲醛和 0.1% 结晶紫固定、染色，在光学显微镜下统计侵入细胞数量。

1.2.5 蛋白质印迹法测定 Caski 细胞中 Notch 信号通路和上皮间质转化（epithelial-mesenchymal transition，EMT）相关蛋白水平

使用 RIPA 裂解缓冲液从收获的上述各组处理的 Caski 细胞中提取总蛋白。通过 15% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质（每个泳道共 30 μg 蛋白质），将分离的蛋白质转移到聚偏二氟乙烯（polyvinylidene difluoride，PVDF）膜上，然后在室温下使用 10% 脱脂牛奶封闭 PVDF 膜 2 h，并在 4℃下与以下一抗孵育过夜：抗 E-cadherin、抗 N-cadherin、抗 Snail、抗 Notch 1、抗 Notch 2、抗 Notch 3、抗 Hes-1、抗 Hes-5 及抗 β- 肌动蛋白抗体。D2，在室温下用含 0.1% 吐温 20 的 TBST 洗涤膜 5 min。洗涤后将膜与二抗孵育 2 h。添加蛋白质印迹发光试剂观察蛋白质条带，并使用 Image J 软件分析蛋白质条带灰度值。

1.3 统计学方法

所有实验数据独立重复 3 次，并用（$\bar{x}\pm s$）表示。使用 SPSS19 中的单因素方差分析，进一步两两比较，使用 SNK-q 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 异泽兰黄素或（和）Notch 1 对 Caski 细胞活力的影响

与 NC 组相比，BC 组 Caski 细胞活力变化无统计学意义（$P>0.05$）；Eupatilin 组 Caski 细胞活力降低（$P<0.05$）；Notch 1 组 Caski 细胞活力增高（$P<0.05$）。与 Eupatilin 组相比，Eupatilin ＋ Notch 1 组 Caski 细胞活力增高（$P<0.05$），见表 1。

表 1 MTT 法检测各组 Caski 细胞活力（$\bar{x}\pm s$）

Table 1 Detection of Caski cell viability by MTT（$\bar{x}\pm s$）

组别	OD值
BC组（n=6）	0.68±0.05
NC组（n=6）	0.72±0.04
Eupatilin组（n=6）	0.40±0.03*#
Notch 1组（n=6）	0.85±0.06*#
Eupatilin＋Notch 1组（n=6）	0.52±0.03
F值	97.832
P值	＜0.001

注：与 NC 组相比，*$P<0.05$；与 Eupatilin ＋ Notch 1 组相比，#$P<0.05$。

Note：*vs* the NC group, *$P<0.05$; *vs* the Eupatilin ＋ Notch 1 group, #$P<0.05$.

2.2 异泽兰黄素或（和）Notch 1 对 Caski 细胞迁移、侵袭的影响

与 NC 组相比，BC 组 Caski 细胞划痕愈合率和侵袭细胞数量变化无统计学意义（$P>0.05$）；Eupatilin 组 Caski 细胞划痕愈合率降低，侵袭细胞数量减少（$P<0.05$）；Notch 1 组 Caski 细胞划痕愈合率增高，侵袭细胞数量增多（$P<0.05$）。与 Eupatilin 组相比，Eupatilin ＋ Notch 1 组 Caski 细胞划痕愈合率增高，侵袭细胞数量增多（$P<0.05$），见图 1、2 及表 2。

2.3 异泽兰黄素或（和）Notch 1 对 Caski 细胞 EMT 的影响

与 NC 组相比，BC 组 Caski 细胞中 E-cadherin、N-cadherin 和 Snail 蛋白水平变化无统计学意义（$P>$

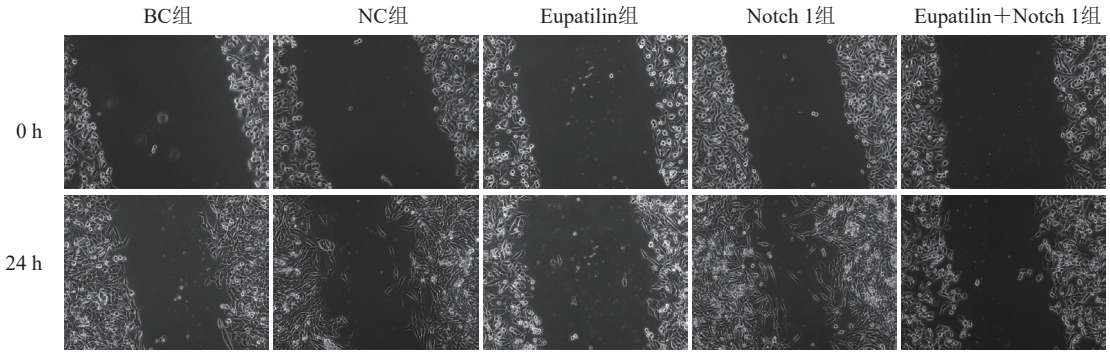


图 1　划痕愈合实验检测各组 Caski 细胞迁移情况

Figure 1　Scratch healing experiment to detect the migration of Caski cells in each group

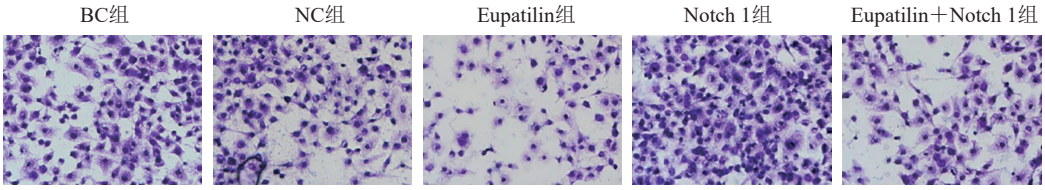


图 2　Transwell 检测各组 Caski 细胞侵袭情况（×200）

Figure 2　Transwell detection of Caski cell invasion in each group（×200）

表 2　各组 Caski 细胞迁移、侵袭情况（$\bar{x}\pm s$）

Table 2　Migration and invasion of Caski cells in each group（$\bar{x}\pm s$）

组别	划痕愈合率/%	侵袭细胞数量/个
BC组（n=6）	42.69±4.54	179.68±12.54
NC组（n=6）	44.73±5.12	188.92±14.63
Eupatilin组（n=6）	24.62±1.54*#	87.26±7.58*#
Notch 1组（n=6）	68.21±5.21*#	238.64±18.23*#
Eupatilin＋Notch 1组（n=6）	36.55±4.06	127.66±10.26
F值	82.204	118.140
P值	＜0.001	＜0.001

注：与 NC 组相比，*P ＜ 0.05；与 Eupatilin ＋ Notch 1 组相比，#P ＜ 0.05。

Note：*vs* the NC group, *P＜0.05; *vs* the Eupatilin＋Notch 1 group, #P＜0.05.

表 3　各组 Caski 细胞中 E-cadherin、N-cadherin 和 Snail 蛋白水平（$\bar{x}\pm s$）

Table 3　E-cadherin, N-cadherin and Snail protein levels in each group of Caski cells（$\bar{x}\pm s$）

组别	E-cadherin	N-cadherin	Snail
BC组（n=6）	0.45±0.05	0.62±0.05	0.73±0.05
NC组（n=6）	0.51±0.04	0.67±0.06	0.80±0.06
Eupatilin组（n=6）	0.98±0.10*#	0.26±0.03*#	0.31±0.05*#
Notch 1组（n=6）	0.22±0.03*#	0.89±0.07*#	1.06±0.08*#
Eupatilin＋Notch 1组（n=6）	0.69±0.08	0.42±0.05	0.52±0.04
F值	113.201	121.604	146.260
P值	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与NC组相比，*P＜0.05；与Eupatilin＋Notch 1组相比，#P＜0.05。

Note：*vs* the NC group, *P＜0.05; *vs* the Eupatilin＋Notch 1 group, #P＜0.05.

0.05）；Eupatilin 组 Caski 细胞中 E-cadherin 蛋白水平上调，N-cadherin 和 Snail 蛋白水平下调（P ＜ 0.05）；Notch 1 组 Caski 细胞中 E-cadherin 蛋白水平下调，N-cadherin 和 Snail 蛋白水平上调（P ＜ 0.05）。与 Eupatilin 组相比，Eupatilin ＋ Notch 1 组 Caski 细胞中 E-cadherin 蛋白水平下调，N-cadherin 和 Snail 蛋白水平上调（P ＜ 0.05），见图 3、表 3。

2.4　异泽兰黄素或（和）Notch 1 对 Caski 细胞中 Notch 信号通路的影响

与 NC 组相比，BC 组 Caski 细胞中 Notch 1、Notch 2、Notch 3、Hes-1 和 Hes-5 蛋白水平变化无统计学意义（P ＞ 0.05）；Eupatilin 组 Caski 细胞中 Notch 1、Hes-1 和 Hes-5 蛋白水平下调（P ＜ 0.05），

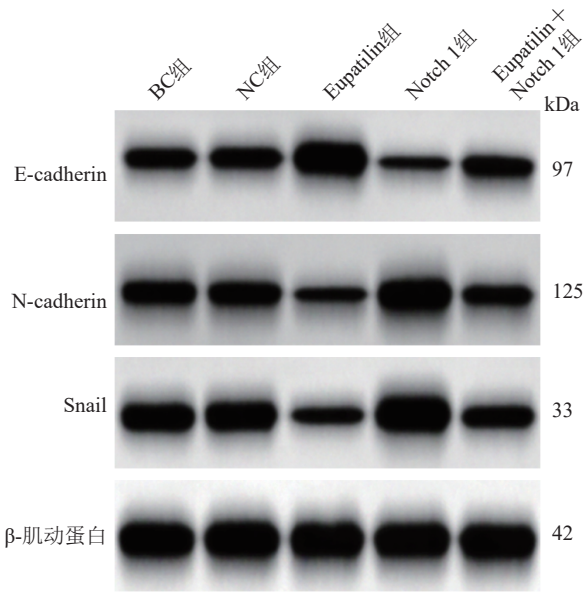


图 3 蛋白质印迹法检测各组 Caski 细胞中 E-cadherin、N-cadherin 和 Snail 蛋白水平

Figure 3 Western blot detected the levels of E-cadherin, N-cadherin and Snail proteins in each group of Caski cells

Notch 2 和 Notch 3 蛋白水平变化无统计学意义（$P > 0.05$）；Notch 1 组 Caski 细胞中 Notch 1、Hes-1 和 Hes-5 蛋白水平上调（$P < 0.05$），Notch 2 和 Notch 3 蛋白水平变化无统计学意义（$P > 0.05$）。与 Eupatilin 组相比，Eupatilin ＋ Notch 1 组 Caski 细胞中 Notch 1、Hes-1 和 Hes-5 蛋白水平上调（$P < 0.05$），Notch 2 和 Notch 3 蛋白水平变化无统计学意义（$P > 0.05$），见图 4、表 4。

3 讨论

CC 是女性第 4 大恶性肿瘤类型，每年造成全球 342 000 例患者死亡，其中 85% 发生在发展中国家。虽然接种 HPV 疫苗和定期筛查几乎可以完全预防 CC，但全球每年仍有约 604 000 例新发患者[7]。传统化疗和放疗不仅无法完全治愈 CC，且不良反应较多。因此，探索更有效的药物来克服传统疗法的缺点至关重要。

中医药为恶性肿瘤的治疗提供丰富的资源，其中许多已成为治疗恶性肿瘤的候选药物。异泽兰黄素是一种天然活性物质，研究表明，其具有抗炎特性，被广泛用于治疗胃炎等消化系统疾病[8]。此外，异泽兰黄素对结肠癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤均显示出抗肿瘤特性[4,9]。已知除抑制肿瘤细胞增殖是肿瘤治疗的方法外，减少肿瘤细胞转移也是一种很有前景的肿瘤治疗方法。Wu 等[5]研究证实，异泽兰黄素在体内外均抑制 CC 肿瘤细胞的增殖、生长。然而，异泽兰黄素是否可以抑制 CC 肿瘤细胞的转移还未可知。故本研究选用人 CC 肠转移细胞系 Caski 细胞为研究对象，旨在通过使用划痕愈合实验和 Transwell 测定异泽兰黄素对 CC 细胞迁移和侵袭的影响。首先本研究对异泽兰黄素处理的细胞活性进行测定，结果显示，异泽兰黄素可降低 Caski 细胞活力，与前人研究报道相一致[5]。进一步研究显

表 4 各组 Caski 细胞中 Notch 1、Notch 2、Notch 3、Hes-1 和 Hes-5 蛋白水平（$\bar{x}\pm s$）

Table 4 Levels of Notch 1, Notch 2, Notch 3, Hes-1 and Hes-5 proteins in each group of Caski cells（$\bar{x}\pm s$）

组别	Notch 1	Notch 2	Notch 3	Hes-1	Hes-5
BC组（n=6）	0.57±0.04	0.61±0.07	0.46±0.05	0.72±0.07	0.49±0.05
NC组（n=6）	0.54±0.03	0.67±0.06	0.51±0.06	0.77±0.06	0.54±0.06
Eupatilin组（n=6）	0.20±0.03*#	0.56±0.06	0.40±0.05	0.33±0.04*#	0.19±0.02*#
Notch 1组（n=6）	0.84±0.06*#	0.74±0.09	0.56±0.07	0.96±0.08*#	0.66±0.05*#
Eupatilin＋Notch 1组（n=6）	0.45±0.04	0.58±0.07	0.42±0.06	0.49±0.05	0.31±0.04
F值	195.872	6.418	7.544	96.047	99.255
P值	＜0.001	0.001	＜0.001	＜0.001	＜0.001

注：与 NC 组相比，*$P < 0.05$；与 Eupatilin ＋ Notch 1 组相比，#$P < 0.05$。

Note: *vs* the NC group, *$P < 0.05$; *vs* the Eupatilin ＋ Notch 1 group, #$P < 0.05$.

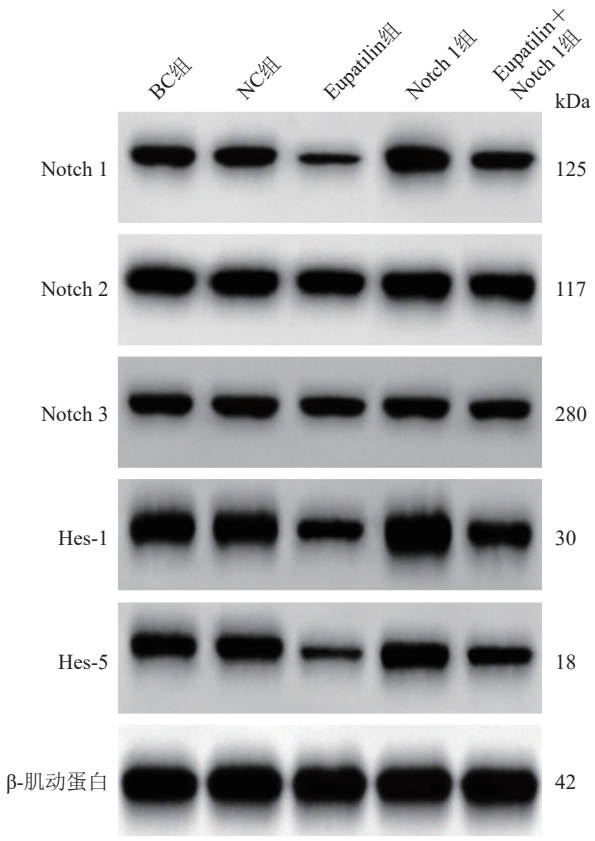


图 4 蛋白质印迹法检测各组 Caski 细胞中 Notch 1、Notch 2、Notch 3、Hes-1 和 Hes-5 蛋白水平

Figure 4 Western blot detected the levels of Notch 1, Notch 2, Notch 3, Hes-1 and Hes-5 proteins in each group of Caski cells

示，异泽兰黄素可明显降低 Caski 细胞划痕愈合率和减少侵袭细胞数量，表明异泽兰黄素可有效抑制 CC 细胞的迁移和侵袭。据报道，在正常情况下，上皮细胞通过调控上皮粘附作用限制细胞的转移能力。而在恶性肿瘤转移过程中，细胞会经历 EMT 的形态变化，通过抑制 E-cadherin 的表达，促进 N-cadherin 的表达，获得运动性和侵袭性[10—11]。Snail 是研究最广泛的协调 EMT 过程的转录因子，可通过直接与 E-cadherin 的启动子结合进而抑制其表达，并促进其向间充质转变[12—13]。本研究结果显示，异泽兰黄素可下调 Caski 细胞中 N-cadherin、Snail 蛋白水平，上调 E-cadherin 蛋白水平。表明异泽兰黄素可通过影响 EMT 过程进而抑制 CC 细胞的转移。

Notch 信号通路广泛存在于多种组织细胞中，参与胚胎发育、组织稳态及细胞生长等生理过程，可通过细胞间短程信号传导调节细胞增殖、命运、分化以及死亡[14]。另外，Notch 通路还与多种恶性肿瘤的病理生理机制密切相关，通过调整保守的细胞程序，广泛参与调节恶性肿瘤的发生、发展[15]。本研究通过蛋白质印迹法检测 Notch 受体水平，结果显示，异泽兰黄素可显著降低 Notch 1 蛋白水平，而对 Notch 2 和 Notch 3 蛋白水平无明显影响。提示异泽兰黄素可能通过调控 Notch 1 发挥抗肿瘤作用。以往研究表明，Hes-1 和 Hes-5 是 Notch 1 的下游靶标基因[16—17]；此外，已有研究证实黄芩素通过 Notch 1/Hes 信号通路抑制人 CC 细胞增殖[18]。故推测异泽兰黄素可能通过 Notch 1/Hes 信号通路发挥抑癌作用。通过检测 Hes-1 和 Hes-5 蛋白水平，发现异泽兰黄素可下调 Hes-1 和 Hes-5 蛋白水平，证实异泽兰黄素可能通过抑制 Notch 1/Hes 信号通路在 CC 中发挥抗肿瘤作用。此外，过表达 Notch 1 可上调 Hes-1 和 Hes-5 蛋白水平，促进 Caski 细胞的迁移和侵袭能力，进一步研究表明，过表达 Notch 1 可在一定程度上逆转异泽兰黄素对 CC 细胞的影响。以上表明异泽兰黄素通过抑制 Notch 1/Hes 信号通路抑制 CC 细胞的迁移和侵袭。

4 结语

综上，异泽兰黄素是 CC 潜在治疗药物，目前仅初步探究 Notch 1/Hes 信号通路在异泽兰黄素对 CC 细胞迁移、侵袭的影响，尚未深入探讨，尤其是 Notch 1 与 Hes 的关系，且并未在动物体内进行验证，具有一定的局限性，后续将针对以上几点不足重点进一步探究。

参考文献：

[1] Szymonowicz KA, Chen J. Biological and clinical aspects of HPV-related cancers[J]. Cancer Biol Med, 2020, 17(4): 864-878.

[2] Wang R, Pan W, Jin L, *et al.* Human papillomavirus vaccine against cervical cancer: opportunity and challenge[J]. Cancer

Lett, 2020, 471(5): 88-102.

[3] Nageen B, Sarfraz I, Rasul A, *et al.* Eupatilin: a natural pharmacologically active flavone compound with its wide range applications[J]. J Asian Nat Prod Res, 2020, 22(1): 1-16.

[4] Serttas R, Koroglu C, Erdogan S. Eupatilin inhibits the proliferation and migration of prostate cancer cells through modulation of PTEN and NF-κB signaling[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2021, 21(3): 372-382.

[5] Wu Z, Zou B, Zhang X, *et al.* Eupatilin regulates proliferation and cell cycle of cervical cancer by regulating hedgehog signalling pathway[J]. Cell Biochem Funct, 2020, 38(4): 428-435.

[6] Reichrath J, Reichrath S. Notch signaling in prevention and therapy: fighting cancer with a two-sided sword[J]. Adv Exp Med Biol, 2021, 1287(25): 1-7.

[7] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[8] Palacios-Espinosa JF, Núñez-Aragón PN, Gomez-Chang E, *et al.* Anti-*Helicobacter pylori* activity of artemisia ludoviciana subsp. mexicana and two of its bioactive components, estafiatin and eupatilin[J]. Molecules, 2021, 26(12): 3654-3662.

[9] Lee M, Yang C, Song G, *et al.* Eupatilin impacts on the progression of colon cancer by mitochondria dysfunction and oxidative stress[J]. Antioxidants(Basel), 2021, 10(6): 957-966.

[10] Loh CY, Chai JY, Tang TF, *et al.* The E-Cadherin and N-Cadherin switch in epithelial-to-mesenchymal transition: signaling, therapeutic implications, and challenges[J]. Cells, 2019, 8(10): 1118-1125.

[11] Fang C, Kang Y. E-Cadherin: context-dependent functions of a quintessential epithelial marker in metastasis[J]. Cancer Res, 2021, 81(23): 5800-5802.

[12] Georgakopoulos-Soares I, Chartoumpekis DV, Kyriazopoulou V, *et al.* EMT factors and metabolic pathways in cancer[J]. Front Oncol, 2020, 10(5): 499-518.

[13] Kielbik M, Szulc-Kielbik I, Klink M. Impact of selected signaling proteins on SNAIL 1 and SNAIL 2 expression in ovarian cancer cell lines in relation to cells' cisplatin resistance and EMT markers level[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(2): 980-992.

[14] Katoh M, Katoh M. Precision medicine for human cancers with Notch signaling dysregulation (Review)[J]. Int J Mol Med, 2020, 45(2): 279-297.

[15] Shen Q, Reedijk M. Notch signaling and the breast cancer microenvironment[J]. Adv Exp Med Biol, 2021, 1287(30): 183-200.

[16] Zeng C, Shao Z, Wei Z, *et al.* The Notch-Hes-1 axis is involved in promoting Th22 cell differentiation[J]. Cell Mol Biol Lett, 2021, 26(1): 7-19.

[17] Chen GQ, Wang QM, Yu M, *et al.* Notch signaling is involved in regulation of LPS-induced macrophage apoptosis through JNK/NF-kB signaling pathway[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2020, 34(1): 1-8.

[18] Lian H, Hui Y, Xiaoping T, *et al.* Baicalein suppresses the proliferation of human cervical cancer cells via Notch 1/Hes signaling pathway[J]. J Cancer Res Ther, 2019, 15(6): 1216-1220.

（编辑：沈　盈）