

抑制SOD1调节上皮间质转化抑制鼻咽癌细胞迁移

付兰燕¹, 邓丽文¹, 戴婷¹, 蒋利玲², 龚青¹, 李帅¹
(广州医科大学 1. 生物化学教研室; 2. 免疫研究所, 广东广州 511436)

摘要:【目的】探讨鼻咽癌异常表达的SOD1及其对细胞迁移能力的影响和可能的分子机制。【方法】采用免疫组化技术检测癌和癌旁组织中SOD1的表达($n = 10$), 采用脂质体转染 siRNA 下调SOD1表达, 用抑制剂LCS-1抑制SOD1, 划痕实验及迁移实验检测其对鼻咽癌细胞体外迁移能力的影响, 定量PCR检测上皮细胞分子标志物E-cadherin及间质型分子Vimentin及转录因子Twist的mRNA水平, Western Blot法检测E-cadherin、Vimentin蛋白水平。【结果】与癌旁组织相比, 7例癌组织中SOD1相对高表达(70%); 在鼻咽癌细胞中, SOD1在高转移细胞系5-8F、S18及CNE2中较低转移细胞系6-10B中高表达。在5-8F、CNE2细胞中敲低或抑制SOD1后鼻咽癌细胞的迁移力下降, 同时上皮型分子E-cadherin的mRNA和蛋白水平被上调、间质型分子Vimentin和转录因子Twist的表达下调。【结论】SOD1可能通过调控鼻咽癌细胞上皮间质转换(EMT)促进鼻咽癌细胞的迁移。

关键词: 上皮间质转化; 鼻咽癌; 超氧化物歧化酶1

中图分类号: R34

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2017)01-0042-07

Suppression of Epithelial Mesenchymal Transition and Metastasis in Nasopharyngeal Carcinoma via SOD1 Inhibition

FU Lan-yan¹, DENG Li-wen¹, DAI Ting¹, JIANG Li-ling², GONG Qing¹, LI Shuai¹

(1. Department of Biochemistry; 2. Immunology Institute, Guangzhou Medical University, Guangzhou 511436, China)

Corresponding to: LI Shuai, E-mail: gundam-speed@163.com

Abstract: 【Objective】 To explore the aberrant expression of SOD1 gene in nasopharyngeal carcinoma tissues and adjacent tissues, as well as in NPC cell lines, then to observe the effect of SOD1 on NPC cells metastatic ability and investigate the intrinsic-mechanism. 【Methods】 Immunohistochemical technique was used to examine SOD1 expression in carcinoma tissues and adjacent tissues ($n = 10$). Small interfering RNAs and inhibitor LCS-1 were used to knockdown of SOD1 expression and inhibit SOD1 activity, respectively. Then, wound healing test and migration assay were applied to detect cell metastatic ability in vitro. Real-time PCR and Western Blot were used to analyze the expression of EMT-related genes (E-cadherin, Vimentin, Twist). 【Results】 SOD1 was found to be significantly up-regulated in nasopharyngeal carcinoma tissues ($n = 7, 70%$), compared to control. SOD1 was also highly expressed in highly metastatic potential NPC cell lines (CNE2, 5-8F, S18) compared with low metastatic ability cell lines (6-10B). Knockdown SOD1 expression or inhibit SOD1 activity suppress cell motility in CNE2 and 5-8F cells. Finally, we demonstrate that SOD1 inhibition plays a role in induction of epithelial marker E-cadherin and has an opposite effect on mesenchymal marker vimentin and transcriptional factor twist. 【Conclusion】 These results suggest that SOD1 contributes to EMT and might be important for tumor metastasis in NPC.

Key word: epithelial-mesenchymal transition; nasopharyngeal carcinoma; superoxide dismutase 1

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2017, 38(1):42-48]

收稿日期: 2016-09-21

基金项目: 广州市科技计划项目科学研究专项(2016070100 46); 广州医科大学博士启动项目(2014C06)

作者简介: 付兰燕, 硕士研究生, 研究方向: 肿瘤代谢与转移, E-mail: 995642197@qq.com; 李帅, 通信作者, 博士, 讲师, 研究方向: 肿瘤代谢与转移, E-mail: gundam-speed@163.com

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是我国南方和东南亚地区常见的一种头颈部恶性肿瘤,它具有明显的地域发病差异^[1]。在我国尤其是在广东省,鼻咽癌是高发地区,被称为“广东瘤”。统计数据显示,全球每年鼻咽癌新发6.5万病例,中国占2.8万例,其中广东鼻咽癌的发病率占全国的60%。鼻咽癌目前的常规治疗,主要以放疗和化疗为主,并在早期有较好的疗效,但病情复发和肿瘤远处转移仍然是病人死亡的主要原因^[2-3]。因此,开发新的有效对付转移肿瘤细胞的方法和思路非常迫切。在肿瘤细胞转移过程中,上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)与肿瘤细胞转移能力有着密切联系^[4]。上皮-间质转化就是上皮细胞失去细胞极性,细胞间连接的过程,此过程改变细胞的形态和结构并获得间质细胞的特征。EMT分子标志物最有意义的改变特征是下调上皮钙粘蛋白E-cadherin和上调波形蛋白Vimentin。高表达的E-cadherin不利于肿瘤细胞的迁移,是肿瘤预后良好的一个生物指标,而Vimentin则相反。EMT赋予细胞迁移浸润、诱导细胞干性、阻滞细胞凋亡、衰老和免疫抑制,由此间充质化的细胞具备了迁移到远处器官、维持干性和分化能力及激发肿瘤转移的能力^[5]。同样,EMT与鼻咽癌细胞的侵袭转移也密切相关,抑制鼻咽癌细胞EMT可以显著抑制鼻咽癌的转移^[6-7]。然而肿瘤细胞发生EMT的机制仍不十分清楚,目前认为抗氧化酶可能参与肿瘤EMT的发生发展^[8-9]。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是一种广泛存在于细胞内的消除超氧阴离子自由基的抗氧化酶,SOD根据定位不同共有三种类型:SOD1,主要定位在胞浆中;SOD2即MnSOD,定位在线粒体中;SOD3,细胞外超氧化物歧化酶,主要在血浆等细胞外基质起作用。研究报道在肺癌、乳腺癌细胞中,SOD1高表达并能促进细胞生长^[10-11]。下调SOD1通过调控PKD2/SOD1信号通路诱导骨髓性白血病细胞凋亡及抑制细胞分化^[12]。由此看来,SOD1可能成为治疗肿瘤的一个新靶点。我们以往研究^[13]发现基础水平低表达但因失巢诱导上调的SOD2促进鼻咽癌失巢凋亡抵抗转移。然而,原本基础水平高表达的SOD1在鼻咽癌转移过程中的作用尚未阐明,SOD1是否除了调控代谢还是否参与EMT的发生有待阐明。我们的研究发现SOD1在癌组

织标本中高表达,在高转移NPC细胞系中同样高表达,抑制SOD1细胞的迁移能力明显下降,同时调控EMT相关蛋白分子表达改变,提示SOD1可能通过调控EMT促进鼻咽癌细胞迁移。

1 材料与方法

1.1 癌组织标本和细胞株与试剂

本研究所用10对病人组织标本(癌组织与癌旁组织)收集于中山大学肿瘤医院2014-2015年病例标本,NPC细胞系由中山大学生化教研室高国全教授惠赠。细胞常规培养于体积分数为5% CO₂, 100 mL/L胎牛血清DMEM条件(含双抗),细胞处理详见方法。siRNA-SOD1及阴性对照siRNA-negative control由广州锐博公司合成,PCR引物由广州生物工程公司合成。OPTi-MEM培养基,DMEM培养基,0.25%胰酶均购于美国GBICO公司。Lipofectamine™ 2000购于life公司。Trizol, BCA蛋白定量试剂盒购于天根公司。RIPA裂解液购于鼎国公司。RT-PCR试剂盒,Real time-PCR试剂盒购于TaKaRa公司。SDS-PAGE凝胶配制试剂盒,结晶紫染色剂购于碧云天公司。ENVISION试剂盒购于基因公司。SOD1抑制剂LCS-1购于Sigma公司。蛋白Marker购于Throm公司。SOD1抗体,E-cadherin抗体,Vimentin抗体购于CST公司,内参β-actin抗体,二抗抗鼠、抗兔抗体均购于proteintech公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学染色 组织切片采用基因公司ENVISION试剂盒说明书进行操作,大概步骤如下:首先进行组织切片脱蜡处理,二甲苯脱蜡:20 min × 3次,无水乙醇:10 min × 1次。水化100%、95%、90%、80%、70%乙醇各5 min。PBST清洗3次后进行抗原修复,使用枸橼酸盐缓冲液,然后封闭使用免疫组化笔画圈,加3% H₂O₂约30 ~ 50 μL/片,室温1 h。PBST清洗3次后孵一抗SOD1(1:200),4℃过夜。使用基因公司ENVISION试剂盒的A液(二抗),30 min。PBST洗后DBA显色:使用基因公司ENVISION试剂盒用B液以1:50比例稀释C液,约30 ~ 50 μL/片,显色时间15 s,水洗20 min 苏木素复染:30 ~ 50 μL/片25 s,水洗后封片,光学显微镜下观察,拍照,分析结果。

1.2.2 siRNA干扰及抑制SOD1 用含100 mL/L

血清 DMEM 培养液培养鼻咽癌细胞系, 放置于 37 ℃, 体积分数为 5% CO₂ 密闭式培养箱内培养。选取对数生长期细胞, 用胰酶消化后重悬接种于 6 孔板, 待细胞融合密度达到 60% 左右, 换液, Lipo2000 进行转染 4 ~ 6 h 后换液。siRNA 干扰分组: 对照组 NC, 实验组 siRNA1#-SOD1, siRNA2#-SOD1。抑制剂分组: 对照组为 DMSO, 实验组为 1.5 μmol/L、3 μmol/L SOD1 抑制剂 LCS-1。24 h 后收集细胞。

1.2.3 qPCR 检测 mRNA 表达水平 弃去培养液, 收集实验组和对照组细胞, 按 Trizol 试剂盒说明书步骤提取总 RNA, primescript RT Master Mix 试剂盒说明书步骤逆转录合成 cDNA (37 ℃ 15 min, 85 ℃ 5 s), 再用 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒两步法扩增目的基因和内参 GAPDH。引物序列如下: SOD1, F: CTGAAGGCCTGCATGGATTTC, R: CCAAGTCTC-CAACATGCCTCTC; E-cadherin, F: ATTTTTCCTC-GACACCCGAT, R: TCCCAGGCGTAGACCAAGA; Vimentin, F: CGGGAGAAATTGCAGGAGGA, R: AAGGTCAAGACGTGCCAGAG; Twist, F: GTCCGCAGT-CTTACGAGGAG, R: GCTTGAGGGTCTGAATCTTG-CT; GAPDH, F: ACATCATCCCTGCCTCTACTG, R: ACCACCTGGTGCTCAGTGTA。应用 7500 定量 PCR 仪进行 PCR。qPCR 反应条件: 95 ℃ 预变性 30 s, 95 ℃ 变性 5 s, 60 ℃ 退火、扩增 34 s, 40 个循环。最后由 Applied Biosystems 7500 定量仪分析数据结果。

1.2.4 Western Blot 检测蛋白表达水平 细胞处理后, 收集实验组和对照组细胞, PBS 洗 2 次, 加入 SDS 裂解液提取细胞总蛋白, BCA 蛋白定量试剂盒对蛋白浓度进行定量, 电泳时每孔上样量 60 μg, 聚丙烯酰胺电泳分离蛋白后低温条件下 (冰浴) 湿转电转至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, PBST 洗膜 3 次, SOD1 (1 : 1 000)、E-cadherin (1 : 1 000)、Vimentin (1 : 1 000)、β-actin (1 : 4 000) 一抗 4 ℃ 孵育过夜, PBST 洗膜 3 次, 分别用相应二抗室温孵育 2 h, PBST 洗膜 3 次后超敏化学发光液显色, GENE 成像仪曝光并拍照, Image J 灰度值扫描定量分析。

1.2.5 细胞划痕修复及迁移能力分析 划痕实验细胞铺满板底后, 用 200 μL 枪头垂直于孔板制造细胞划痕, 划痕宽度一致。PBS 洗去脱落细胞并换液, 继续培养 0、24 及 36 h, 拍照并分析数

据。Transwell 小室迁移实验: 上室加入 100 μL 细胞悬液, 每孔 20 000 个, 下室加入 600 μL 含 100 mL/L 血清 DMEM 培养液, 置于培养箱 24 h 后, 取出小室用 40 g/L 多聚甲醛溶液固定 30 min、结晶紫染色 10 min 并用棉签去除上室细胞, PBS 洗后在显微镜 (100×) 下观察细胞迁移情况并择上下左右四个视野拍照、计数。

1.2.6 统计学方法 采用 SPSS16.0 统计软件, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组之间比较应用 *t* 检验, 多样本采用方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 SOD1 蛋白在组织标本及 NPC 细胞系中的表达

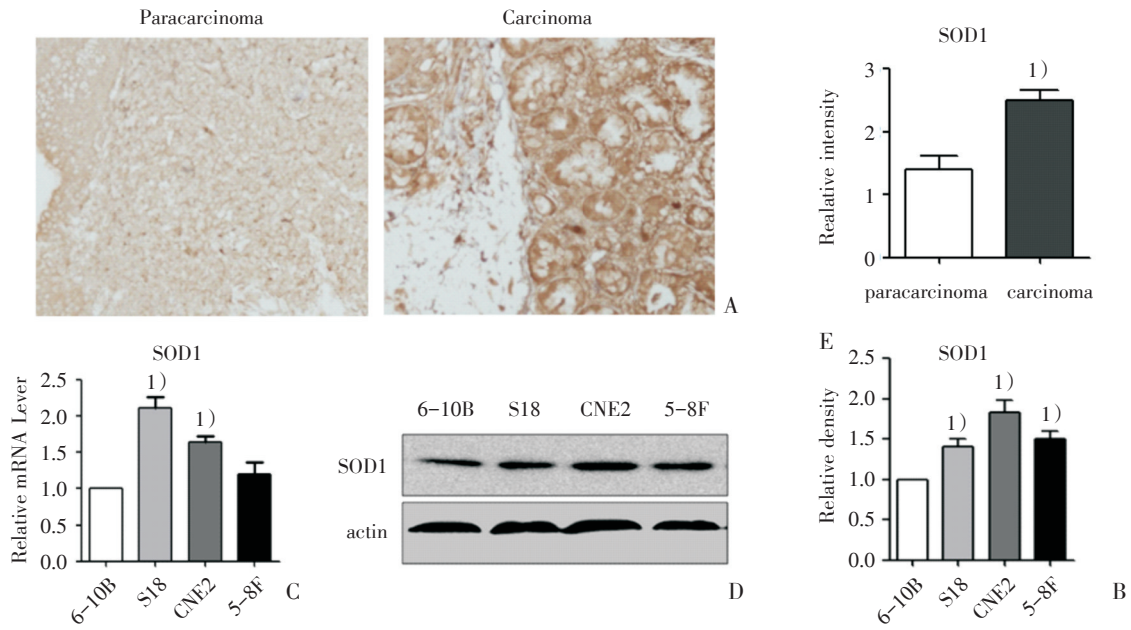
为了检测 SOD1 的表达与肿瘤转移是否有相关性, 收集 10 对鼻咽癌组织及对照组织行免疫组化染色, 在光学显微镜下 (40×10) 对切片染色拍照并对切片染色进行评估, 选取 5 个局部视野, 根据着色强弱评分: 无着色 0 分, 浅黄褐色为 1 分, 褐色为 2 分, 深褐色为 3 分。结果显示 10 对组织标本相对比较, 7 对组织标本显示癌组织中 SOD1 高表达 (图 1A、B), 3 对显示无差异。在细胞水平, 采用定量 PCR 与 Western Blot 方法检测 SOD1 在不同转移能力鼻咽癌细胞中的表达。结果显示高转移 S18、CNE2、5-8F 细胞中 SOD1 的 mRNA 水平 (图 1C) 及蛋白水平 (图 1D、E) 均显著高于低转移株 6-10B。

2.2 抑制 SOD1 抑制鼻咽癌细胞损伤愈合

为了研究 SOD1 是否参与鼻咽癌细胞的迁移, 采用细胞划痕实验直观的观察划痕后细胞的愈合程度, 以体现细胞的体外迁移能力。于 0、24 和 36 h 分别于倒置显微镜下观察细胞的愈合情况并拍照。结果显示, LCS-1 处理的 5-8F 细胞与 CNE2 细胞与对照组相比, 划痕后 24 和 36 h 细胞的愈合能力受到明显抑制, 且具有浓度依赖效果 (图 2)。

2.3 siRNA 干扰 SOD1 表达效果鉴定

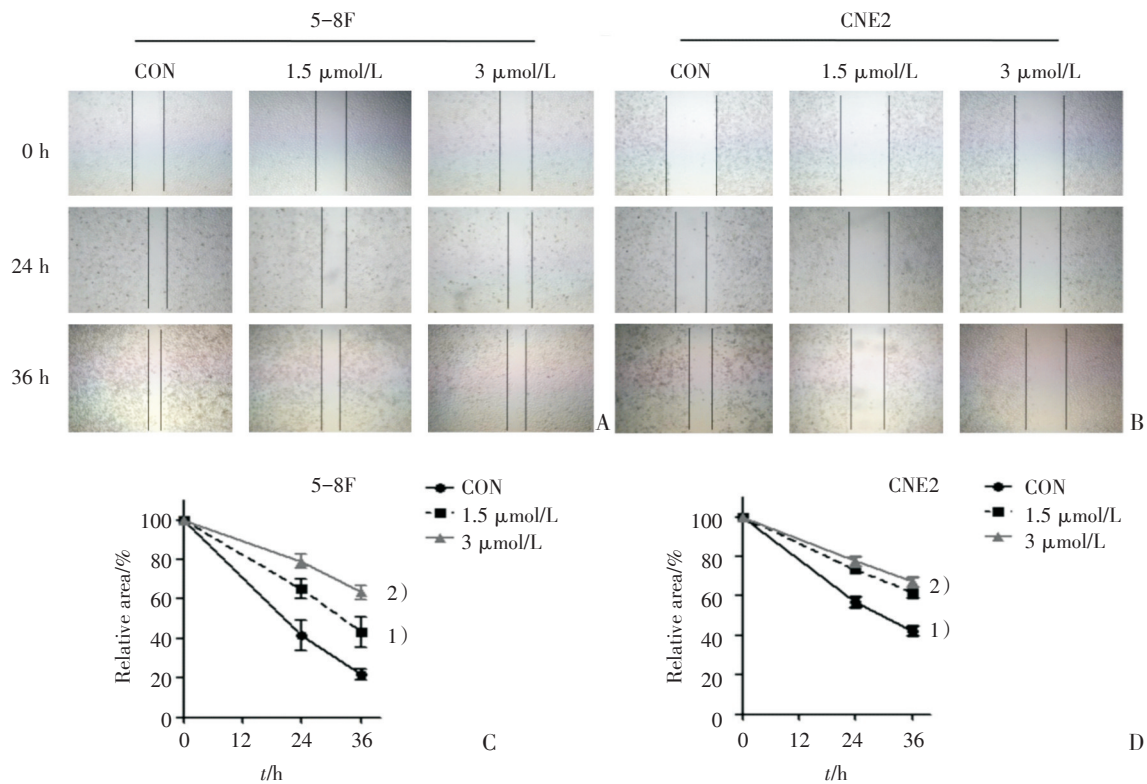
为了进一步验证 SOD1 是否参与鼻咽癌细胞转移构建敲低 SOD1 表达体系, 我们利用脂质体转染小分子 siRNA 方法, 干扰 24 h 后收集样品, 应用定量 PCR 及 Western Blot 进行鉴定。定量 PCR



Immunohistochemistry analysis for detecting SOD1 expression in nasopharyngeal carcinoma tissues and adjacent tissues ($n = 10$) (A & B). SOD1 mRNA levels (C) or protein levels (D & E) in high-metastasis S18, CNE2, 5-8F cells and low-metastasis 6-10B cells. β -actin was used as a loading control. 1) $P < 0.05$ compared with control. $\times 100$.

图1 SOD1在鼻咽癌组织及细胞中的表达

Fig.1 SOD1 expression in asopharyngeal carcinoma tissues and NPC cell lines



1.5 $\mu\text{mol/L}$ and 3 $\mu\text{mol/L}$ LCS-1 were used to inhibit 5-8F (A) and CNE2 (B) cells SOD1 activity, Microscopic observations were recorded 0, 24 and 36 hours after scratching the cell surface. (C, D) The area between wound edges of NPC cells at 0, 24 and 36 h. 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$.

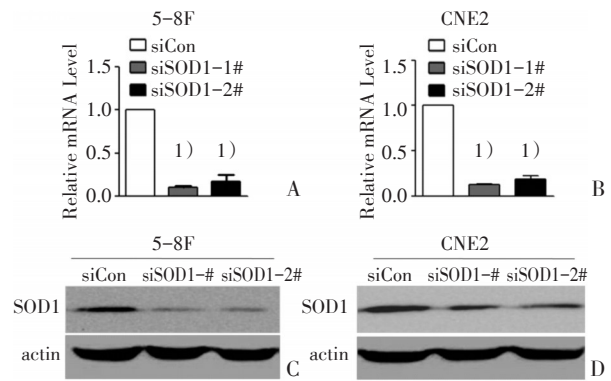
图2 SOD1抑制剂对鼻咽癌细胞划痕修复的影响

Fig.2 Effects of LCS-1 on wound healing in NPC cells

结果显示,5-8F(图3A)与CNE2(图3B)对照组Control与干扰组SiRNA1-SOD1、SiRNA2-SOD1相比,SOD1mRNA水平下降90%左右。Western Blot结果同样显示,干扰后SOD1蛋白表达明显降低(图3C和D)。说明构建瞬时转染敲低SOD1的NPC细胞系成功。

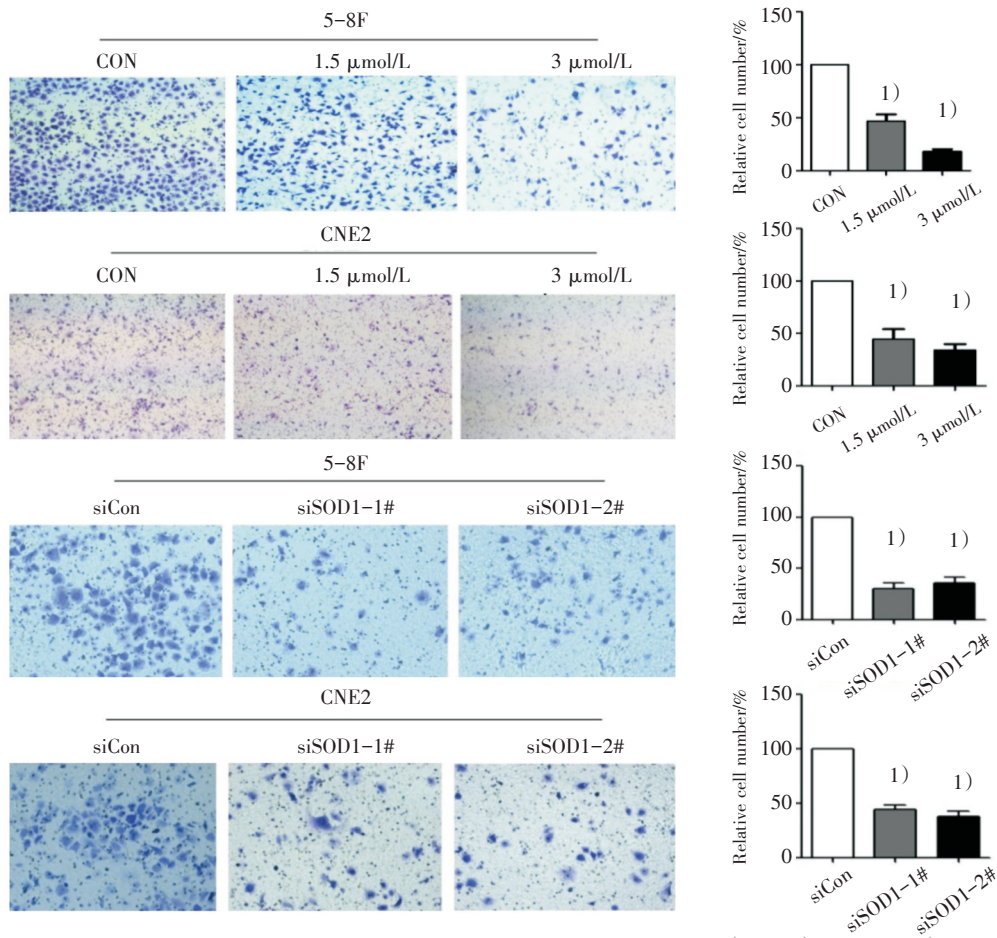
2.4 抑制SOD1或敲低SOD1表达抑制鼻咽癌细胞迁移

我们进一步采用Transwell迁移实验体外检测敲低SOD1或者抑制SOD1活性对鼻咽癌细胞迁移的影响。结果显示,使用SOD1的抑制剂LCS-1处理NPC细胞24h后,5-8F(图4A)和CNE2(图4B)实验组细胞迁移数明显低于对照组细胞迁移数,且具有浓度依赖性。进一步通过小分子干扰RNA敲低SOD1后观察实验组与对照组迁移情况,干扰组细胞迁移能力也显著下降,与抑制剂结果一致(图4C、D; $P < 0.01$)。



NPC cells were transfected with siRNA against SOD1 (siSOD1-# & siSOD1-2#) or siCon. SOD1 mRNA (A & B) or proteins (C & D) were measured in indicated cells by Q-PCR or Western blot, respectively. Data are represented as mean fold change compared with siCon. 1) $P < 0.01$ vs siCon

图3 干扰RNA对SOD1的干扰效果鉴定
Fig.3 Knockdown of SOD1 by siRNA in NPC

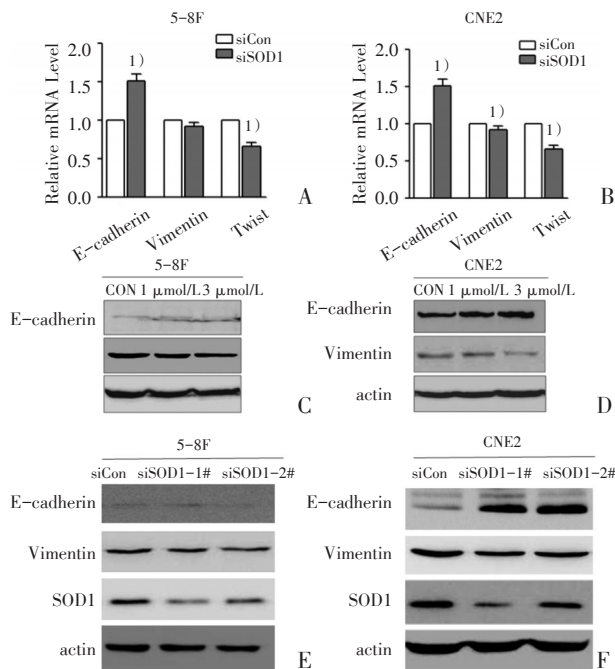


Photographs show cells that travelled through the micropore membrane with LCS-1 (A & B) or siRNA (C & D) as indicated. Histograms showed the numbers of migration cells. 1) $P < 0.01$. $\times 40$.

图4 SOD1对鼻咽癌细胞迁移的影响
Fig.4 Effects of SOD1 on migration ability in NPC cells

2.5 SOD1参与调控EMT相关基因mRNA及蛋白的表达

上述结果证实,SOD1参与调节鼻咽癌细胞的运动能力。为了进一步探讨抑制SOD1引起细胞运动能力下降的机制,我们进一步检测了与肿瘤转移相关的EMT相关分子的表达。结果发现下调SOD1后,在mRNA水平,上皮标志物E-cadherin表达上调,间质标志物Vimentin表达下调,EMT相关转录因子twist的mRNA水平下调(图5A、B),进一步用1 $\mu\text{mol/L}$ 及3 $\mu\text{mol/L}$ 的抑制剂LCS-1处理鼻咽癌细胞,E-cadherin蛋白水平表达上调,Vimentin表达则下调(图5C、D)。干扰SOD1后行Western blot检测发现,E-cadherin表达上调,Vimentin表达则下调,结果趋势与抑制剂一致(图5E、F)。提示SOD1通过调控EMT进而调节鼻咽癌细胞转移能力。



NPC cells were transfected with siRNA against SOD1 or siCon (A, B, E & F) or treated with LCS-1 (C & D), Q-PCR analysis of indicated mRNA and Immunoblots of indicated proteins as representative of 2 independent experiments are shown. 1) $P < 0.05$

图5 抑制SOD1抑制EMT相关基因的表达

Fig.5 Absence of SOD1 suppress EMT

3 讨论

SOD最早被发现因抗氧化而闻名,SOD具有三种类型(SOD1、SOD2和SOD3)并定位在细胞不

同亚位置。其中SOD1主要定位在细胞浆,约3%的SOD1表达在线粒体膜间隙。因有氧呼吸的需要,SOD是清除活性氧(ROS)第一步反应,因此SOD被认为是抗氧化、衰老的重要生理功能的酶。在肿瘤研究中,最近越来越多的研究发现SOD1在不同类型的恶性肿瘤中都发现为高表达,由于其能够有效地清除胞内超氧阴离子自由基而促进癌细胞的生长。Somwar等^[10]报道SOD1过表达会促进肺癌细胞的增殖及抑制凋亡,LCS-1抑制SOD1具有很好地抗非小细胞肺癌的作用。Glasauer等^[14]表明通过ShRNA或ANT-224抑制SOD1,具有明显降低肺癌细胞A549的存活力,而对正常气道上皮细胞无影响。这些均说明SOD1与肿瘤的生长密切相关。在乳腺癌中^[11],SOD1高表达而SOD2低表达,这与正常乳腺上皮细胞表达情况相反,因此被认为发生了SOD switch。值得一提的是,同样在乳腺癌中另一篇文章报道^[15],SOD2通过促进H₂O₂浓度升高激活AMPK而维持乳腺癌Warburg效应。这些说明,SOD2在促肿瘤生长中的作用机制未明确,仍存有一定争议。

目前关于SOD1在鼻咽癌中的表达及作用、机制仍不清楚。我们结果发现在组织中,鼻咽癌与癌旁组织比较,SOD1在癌组织中及恶性鼻咽癌细胞系中高表达(图1)。提示SOD1与鼻咽癌恶性程度有关,可能参与鼻咽癌转移。接着我们通过体外划痕实验表明,抑制剂LCS-1抑制SOD1后,鼻咽癌细胞愈合速度显著下降(图2)。为了进一步提高特异性,采用小分子干扰RNA,敲低SOD1的表达(图3),结果发现鼻咽癌细胞的迁移能力显著受到抑制(图4)。证实SOD1确实能调控鼻咽癌细胞运动能力。

研究表明,肿瘤细胞的侵袭迁移能力的改变,会出现EMT转化特征^[16]。在EMT过程中,肿瘤细胞获得更强地侵袭和迁移能力,EMT发生时,上皮标志丢失,如黏附蛋白E-cadherin,同时伴随着间质性标志表达增加,如Vimentin、Fibroectin等。许多转录因子Snail、Slug、Twist等^[17]介导了EMT分子的表达调控。在两株NPC细胞中,干扰SOD1表达后E-cadherin表达上调,Vimentin等表达水平下调(图5)。抑制SOD1活性同样明显改变了EMT相关基因的表达,在蛋白水平上调了E-cadherin的表达,下调了Vimentin的表达(图5)。因此我们认为SOD1参与调节了EMT的发生,导致NPC细

胞系的迁移能力增强。我们的研究提示SOD1可能作为控制鼻咽癌EMT相关转移机制的新靶点,为治疗鼻咽癌转移提供新的思路。尽管如此,但是SOD1调控EMT的具体分子机制还不清楚。除了抗氧化调节代谢作用,SOD1最近被发现一种新的功能:SOD1可以作为转录因子直接调节抗氧化酶的表达应对氧化应激^[18]。那么是否SOD1能直接调控EMT相关基因表达还有待进一步的研究。

参考文献

- [1] Xia YY, Yin L, Jiang N, et al. Down regulating HMGA2 attenuates epithelial-mesenchymal transition-induced invasion and migration in nasopharyngeal cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 463(3): 357-363.
- [2] Wu MS, Wang GF, Zhao ZQ, et al. Smac mimetics in combination with TRAIL selectively target cancer stem cells in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(9): 1728-1737.
- [3] Chen C, Wang FH, An X, et al. Triplet combination with paclitaxel, cisplatin and 5-FU is effective in metastatic and/or recurrent nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2013, 71(2): 371-378
- [4] Zhou Z, Zhang L, Xie B, et al. FOXC2 promotes chemo resistance in nasopharyngeal carcinomas via induction of epithelial mesenchymal transition [J]. *Cancer Lett*, 2015, 363(2): 137-145
- [5] Thiery JP, Acloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease [J]. *Cell*, 2009, 139(5): 871-890.
- [6] Song LB, Li J, Liao WT, et al. The polycomb group protein Bmi-1 represses the tumor suppressor PTEN and induces epithelial-mesenchymal transition in human nasopharyngeal epithelial cells [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(12): 3626-3636.
- [7] Kong QL, Hu LJ, Cao JY, et al. Epstein-Barr virus-encoded LMP2A induces an epithelial-mesenchymal transition and increases the number of side population stem-like cancer cells in nasopharyngeal carcinoma [J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(6): e1000940.
- [8] Kinugasa H, Whelan KA, Tanaka K, et al. Mitochondrial SOD2 regulates epithelial-mesenchymal transition and cell populations defined by differential CD44 expression [J]. *Oncogene*, 2015, 34(41): 5229-5239.
- [9] Schieber MS, Chandel NS. ROS links glucose metabolism to breast cancer stem cell and EMT phenotype [J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(3): 265-267.
- [10] Somwar R, Erdjument-Bromage H, Larsson E, et al. Superoxide dismutase 1 (SOD1) is a target for a small molecule identified in a screen for inhibitors of the growth of lung adenocarcinoma cell lines [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(39): 16375-16380.
- [11] Papa L, Hahn M, Marsh EL, et al. SOD2 to SOD1 switch in breast cancer [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(9): 5412-5416.
- [12] Chen YL, Kan WM. Down-regulation of superoxide dismutase 1 by PMA is involved in cell fate determination and mediated via protein kinase D2 in myeloid leukemia cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(10): 2662-2675.
- [13] Li S, Mao Y, Zhou T, et al. Manganese superoxide dismutase mediates anoikis resistance and tumor metastasis in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(22): 32408-32420.
- [14] Glasauer A, Sena LA, Diebold LP, et al. Targeting SOD1 reduces experimental non small cell lung cancer [J]. *J Clin Invest*, 2013, 124(1): 117-128.
- [15] Peter CH, Mao M, Andre LP, et al. MnSOD up regulation sustains the Warburg effect via mitochondrial ROS and AMPK-dependent signaling in cancer [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6053.
- [16] Wang L, Sang Y, Tang J, et al. Down-regulation of prostate stem cell antigen (PSCA) by Slug promotes metastasis in nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Pathol*, 2015, 237(4): 411-422.
- [17] Zhao J, Kong Z, Xu F, et al. A role of MMP-14 in the regulation of invasiveness of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(11): 8609-8615.
- [18] Tsang CK, Liu Y, Thomas J, et al. Superoxide dismutase I acts as a nuclear transcription factor to regulate oxidative stress resistance [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3446.

(编辑 徐杰)