

文章编号: 1004-7220(2023)02-0261-07

# 模拟低氧微环境中基质硬度对结肠癌细胞 上皮-间质转化的影响

张静<sup>1,2</sup>, 周家建<sup>3</sup>, 党青亚<sup>2</sup>, 许欣欣<sup>2</sup>, 林英豪<sup>2</sup>, 李勋晓<sup>2</sup>, 李海滨<sup>2</sup>

(1. 济宁医学院图书馆, 山东 济宁 272067; 2. 济宁医学院精准医学研究院, 山东 济宁 272067; 3. 潍坊医学院临床医学院, 山东 潍坊 261042)

**摘要:**目的 通过模拟人结肠癌组织微环境, 研究基质硬度和低氧协同对结肠癌细胞 SW480 上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的影响。方法 制备硬度分别为 4.5、20、40 kPa 聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA) 凝胶模拟结肠癌组织各部位的刚度范围。以氯化钴 (CoCl<sub>2</sub>) 模拟低氧微环境, 在不同硬度基底上检测细胞形态变化; 利用 Western blot 检测低氧诱导因子 (hypoxia inducible factor, HIF-1 $\alpha$ ) 以及 EMT 相关蛋白 E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin)、转录因子 Snail 1 表达; 通过实时荧光定量 PCR 检测 HIF-1 $\alpha$ 、E-cadherin、Vimentin、Snail 1、基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 和 MMP-9 基因表达。结果 模拟低氧微环境中, 随基质硬度增加, 细胞铺展面积增大, 由圆形逐渐变为纺锤形; 通过上调 Vimentin、Snail-1、MMP-2、MMP-9 表达以及下调 E-cadherin 表达, 可以促进结肠癌细胞 SW480 EMT 的发生。结论 研究结果对进一步探索基质硬度和低氧对结肠癌细胞 EMT 协同作用及分子机制具有重要意义。

**关键词:** 结肠癌细胞; 基质硬度; 低氧; 上皮-间质转化

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2023.02.009

## Effects of Substrate Stiffness on Epithelial-Mesenchymal Transition of Colon Cancer Cells under Simulated Hypoxia Environment

ZHANG Jing<sup>1,2</sup>, ZHOU Jiajian<sup>3</sup>, DANG Qingya<sup>2</sup>, XU Xinxin<sup>2</sup>, LIN Yinghao<sup>2</sup>,  
LI Xunxiao<sup>2</sup>, LI Haibin<sup>2</sup>

(1. Library of Jining Medical University, Jining 272067, Shandong, China; 2. Institute of Precision Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, Shandong, China; 3. School of Clinical Medicine, Weifang Medical University, Weifang 261042, Shandong, China)

**Abstract: Objective** To explore the effects from the synergy of substrate stiffness and hypoxia on epithelial-mesenchymal transition (EMT) of colon cancer cells SW480 by simulating the microenvironment of human colon cancer tissues. **Methods** Polyvinyl alcohol gels with different stiffness (4.5, 20, 40 kPa) were prepared to simulate the stiffness of each part of colon cancer tissues. The morphological change of cells on substrate with different stiffness was detected under simulated hypoxia (CoCl<sub>2</sub>) environment. The expression of hypoxia-inducible factor (HIF-1 $\alpha$ ), and EMT markers E-cadherin, Vimentin, Snail 1 were detected by Western blot. The mRNA expression of E-cadherin, Vimentin, Snail 1, matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), and MMP-9 was detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). **Results** Under simulated hypoxia environment, with the increase of substrate stiffness, the SW480 cells spreading area increased, and transformed from round shape

收稿日期: 2021-11-15; 修回日期: 2022-01-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81770058), 济宁医学院教师科研扶持基金项目 (JYFC2018KJ071)

通信作者: 李海滨, 副教授, E-mail: ivanhli241@126.com

into irregular polygon. The EMT of SW480 could be enhanced through up-regulating expression of Vimentin, Snail 1, MMP-2, MMP-9, and down-regulating expression of E-cadherin. **Conclusions** This study is important for exploring the synergistic effect of substrate stiffness and hypoxia on the EMT of colon cancer cells as well as the molecular mechanism.

**Key words:** colon cancer cell; substrate stiffness; hypoxia; epithelial-mesenchymal transition (EMT)

结直肠癌是目前最常见的消化道恶性肿瘤,严重威胁人类的健康。世界卫生组织国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)发布的全球肿瘤流行病学统计数据显示,2020 年全球结肠癌新发病例 193.16 万,死亡病例 93.52 万,分别占有恶性肿瘤第 3 位和第 2 位<sup>[1]</sup>。研究证实,上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肿瘤发展进程中的重要环节,肿瘤细胞发生 EMT 后可获得较强的侵袭能力,并能够浸润至周围的胞外基质中,从而形成肿瘤生长与转移的微环境<sup>[2]</sup>。EMT 不仅直接影响肿瘤细胞的黏附、迁移和侵袭,还可以促进肿瘤细胞的干性,提高肿瘤细胞的抗凋亡及耐受放化疗能力<sup>[3-6]</sup>。因此,研究影响肿瘤细胞 EMT 的因素对研发靶向肿瘤转移的治疗方案具有重要意义。

大量临床和动物研究发现,肿瘤的发生发展伴随着细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的异常沉积以及基质硬度的增加<sup>[7]</sup>。而基质硬度可以通过影响细胞因子、整合素等参与调节肿瘤血管生成及肿瘤细胞形态、增殖、迁移和 EMT 等生物学行为<sup>[8-9]</sup>。Shibahara 等<sup>[10]</sup>研究发现,胞外基质的机械力可以激活 TGF- $\beta$  促进结肠肿瘤上皮向间质转化。Tang 等<sup>[11]</sup>研究表明,培养在一定范围硬度聚丙烯酰胺凝胶(polyacrylamide, PA)基底上的结肠癌细胞 HCT-8 可由上皮样表型向间质样表型转化。间充质样癌细胞运动性增强,使其能够脱离癌细胞群并迁移到其他部位<sup>[10]</sup>。另外,低氧微环境也是癌症发展的重要特征之一,低氧微环境已被证实与结肠癌的进展和转移有关<sup>[12]</sup>。HIF-1 $\alpha$  是缺氧转录反应的关键介导因子,其过表达与许多实体肿瘤的不良预后相关,包括胃癌、骨肉瘤和结直肠癌等<sup>[13-15]</sup>。局部低氧微环境不仅影响肿瘤细胞的功能,还可以改变 ECM 组成,调节肿瘤免疫反应和血管生成<sup>[16-17]</sup>。目前,有关低氧微环境中不同硬度基底对结肠癌细胞 EMT 影响的研究较少。本文通过模拟

结肠癌发展过程中的在体微环境,研究低氧微环境下不同硬度基底对结肠癌细胞 SW480 EMT 的影响,以期进一步理解肿瘤发生机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料和试剂

L-15 细胞培养液、胰酶、TRIzol (Invitrogen 公司, 美国),胎牛血清 (Hyclone 公司, 美国), PBS、HEPES (上海碧云天生物技术有限公司), 聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA)、戊二醛 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司), RT-PCR 试剂盒、SYBR Real-time PCR Master Mix (TOYOBO 公司, 日本), CCK-8 试剂盒 (碧云天生物技术有限公司), 小鼠 anti-E-cadherin、兔 anti-Vimentin (Santa Cruz Biotechnology 公司, 美国), 兔 anti-Snail (Cell Signaling Technology 公司, 美国), 小鼠 anti-N-cadherin、兔 anti-HIF-1 $\alpha$ 、小鼠 anti- $\beta$ -actin (Proteintech 公司, 美国), sulfo-SANPAH、Fibronectin (Sigma 公司, 美国), 人结肠癌细胞系 SW480 (ATCC, 美国)

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 人结肠癌细胞 SW480 选用 L-15 培养液加入 10% 胎牛血清, 在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、CO<sub>2</sub> 恒温细胞培养箱中常规培养。

**1.2.2 PVA 水凝胶制备及力学特性检测** 不同硬度 PVA 水凝胶制备参照文献[18-19]的工作, 根据本实验室相关实验条件进行调整制备。取 PVA 粉末加入双蒸水中, 磁力搅拌仪搅拌溶解 15 min, 90  $^{\circ}\text{C}$  水浴 15 min, 重复 3~4 次, 于高压锅内高压杀菌溶解。分别取 10 g 8% PVA (1799 型) 溶液, 在无菌操作台中加入不同体积催化剂 (HCL:水 = 1:1) 和交联剂 GA (戊二醛 25%), 分别取 10 g 8% PVA (1799 型) 溶液, 在无菌操作台中加入不同体积催化剂 (HCL:水 = 1:1) 和交联剂 GA (戊二醛 25%), 配置相应的 PVA 凝胶溶液, 加入培养板中待溶液成胶备用。双蒸水浸泡饱和溶胀后, 用 75% 酒精浸泡

40 min, 置于紫外灯下照射。随后, 使用无菌 0.05 mol/L HEPES 缓冲液浸泡 24 h, 每 6 h 更换 1 次缓冲液, 以最大程度去除未参与反应的交联剂和催化剂。使用原子力显微镜 (Nano Wizerd II, JPK 公司, 德国) 检测水凝胶弹性模量, 通过分析计算得到水凝胶的刚度。

**1.2.3 PVA 水凝胶表衬** PVA 水凝胶上加入 1 mL sulfo-SANPAH 工作液于紫外光 (波长 365 nm) 下照射 30 min; 去除 Sulfo-SANPH 工作液, HEPES 缓冲液清洗 3 次; 加入已经配置并过滤后的 Fibronectin 工作液, 4 °C 过夜处理后去除 Fibronectin 工作液, 无菌 PBS 缓冲液清洗 3 次, 加入无血清 L-15 培养液于培养箱中 30 min 后去除培养液备用。

**1.2.4 低氧处理** 将接种于不同硬度基底 SW480 细胞在细胞培养箱中培养 24 h 后, 换用新鲜配制的含不同浓度氯化钴的培养液处理, 用于后续实验。

**1.2.5 细胞形态分析及活力检测** 根据文献 [11, 20], 选择 4.5、20、40 kPa 模拟结肠癌组织中不同部位的主要组织刚度, 未铺凝胶, 硬度约为 1 GPa 聚苯乙烯细胞培养板基底 (polystyrene substrate, PS) 作为对照。取处于对数生长期的细胞接种于不同硬度的基底上, 每孔约  $10^5$  个细胞。24 h 后低氧 (氯化钴) 处理并继续放置于细胞培养箱内培养, 荧光显微镜观察细胞 24 h 的生长状态, 定期拍照记录并分析。

**1.2.6 Western blot 检测蛋白表达变化** 将处于对数生长期的细胞消化后接种于不同硬度基底的培养皿中, 低氧处理 24 h 后去上清, 收集、裂解细胞后制备样品进行 SDS-PAGE 电泳。电泳结束后将蛋白转移到 PVDF 膜上。用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, TBST 洗膜 3 次, 加入按比例稀释后的一抗 4 °C 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次后室温孵育二抗 1 h。洗膜后显影并通过凝胶成像系统观察蛋白表达情况。β-actin 作为内参照。

**1.2.7 荧光定量 RT-PCR 检测基因表达变化** 含不同硬度 PVA 水凝胶的常氧组、低氧组细胞培养 24 h 后提取总 RNA。利用紫外分光光度计检测 RNA 的浓度并进行反转录。实时定量 PCR 仪 (LightCycler II, Roche 公司, 瑞士) 检测 E-cadherin、Vimentin、Snail 1、MMP-2、MMP-9、HIF-1α mRNA 表达, 18S rRNA 作为内参进行数据分析。引

物由上海生工生物工程技术有限公司合成, 序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Tab. 1 PCR primer sequences

基因	产物大小/bp	引物序列 (5'-3')
HIF-1α	185	5'-ATGTACCATGAGGAAATGAGAGAA-3' 5'-ACGTGAATGTGGCCTGTGCA-3'
E-cadherin	200	5'-TGCCAGAAAATGAAAAAGG-3' 5'-GTGTATGTGGCAATGCGTTC-3'
Vimentin	98	5'-AGTCCACTGAGTACCGGAGAC-3' 5'-CATTTCCAGCATCTGGCGTTC-3'
Snail 1	464	5'-CGAAGCACAGAGCAAAAAG-3' 5'-CCCGGACAATCTCACGC-3'
MMP-2	112	5'-GATACCCCTTTGACGGTAAGGA-3' 5'-CCTTCTCCAAGTCCATAGC-3'
MMP-9	97	5'-TGTACCGCTATGTTACTACTCG-3' 5'-GGCAGGGACAGTTGCTTCT-3'
18S rRNA	100	5'-GTAACCCGTTGAACCCCAT-3' 5'-CCATCCAATCGGTAGTAGCG-3'

### 1.3 统计学分析

用 Image J 分析实验结果, 实验结果以均值 ± 标准差表示 ( $n \geq 3$ ), 并进行单因素方差分析, 用 GraphPad Prism 软件进行统计分析,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PVA 水凝胶弹性模量

研究发现, 正常结肠组织硬度为 0.6 ~ 10 kPa, 而结肠肿瘤组织硬度为 21 ~ 47 kPa<sup>[20-22]</sup>。本文结果表明, 基底硬度为 4.5、20、40 kPa 时, PVA 凝胶弹性模量分别为 (4.5 ± 0.29)、(19.2 ± 1.48)、(40.9 ± 2.13) kPa, 各组间有显著差异 (见图 1)。

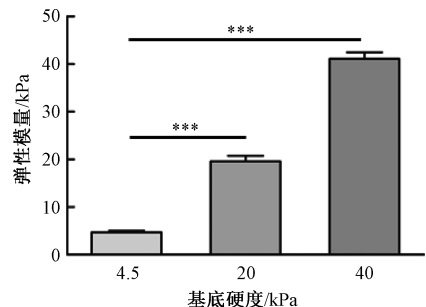


图 1 不同硬度基底上 PVA 水凝胶弹性模量比较

Fig. 1 Comparison of elastic modulus for PVA hydrogels on substrate with different stiffness

注: \*\*\*  $P < 0.001$ 。

## 2.2 低氧环境中不同硬度基底上细胞形态变化及活力变化

如图2所示,在模拟低氧(氯化钴 100  $\mu\text{mol/L}$ )环境中培养 24 h 后,结肠癌细胞 SW480 可较好地生长在不同硬度 PVA 水凝胶上。在 4.5 kPa 硬度基质上,细胞较圆,随着基质硬度升高,细胞铺展较开,细胞铺展面积逐渐增大,呈不规则多边形[见图2(a)]。与 4.5 kPa 硬度基质上相比,20 kPa、

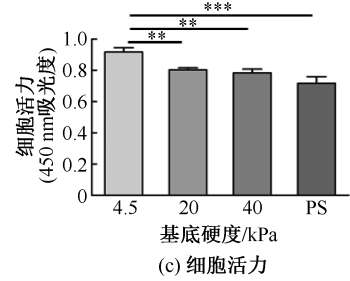
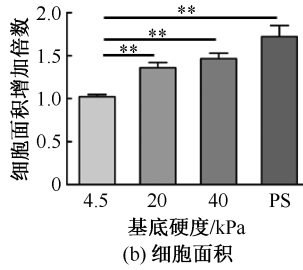
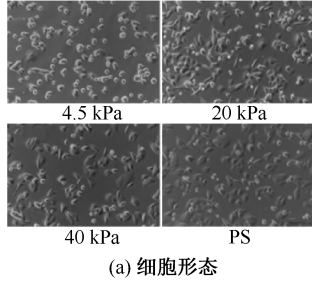


图2 模拟低氧环境中 SW480 细胞在不同硬度基底上的形态及活力变化

Fig. 2 Morphology and viability changes of SW480 cell on substrate with different stiffness under simulated hypoxia environment (a) Cell morphology, (b) Cell area, (c) Cell viability

注: \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; 标尺 = 200  $\mu\text{m}$ 。

## 2.3 低氧环境中不同硬度基底上 EMT 相关蛋白表达

为研究基质硬度和低氧联合对 SW480 细胞 EMT 的影响,通过 Western blot 检测低氧诱导因子 HIF-1 $\alpha$  以及 EMT 相关标志蛋白 E-cadherin、Vimentin 及转录

因子 Snail 1 的表达。首先,检测单独模拟低氧处理(氯化钴 100、150  $\mu\text{mol/L}$ )对相关蛋白表达的影响。结果显示,PS 组低氧处理后,HIF-1 $\alpha$  表达升高,上皮标志蛋白 E-cadherin 表达明显减少,而间质标志蛋白 Vimentin、Snail 1 的表达显著升高(见图3)。

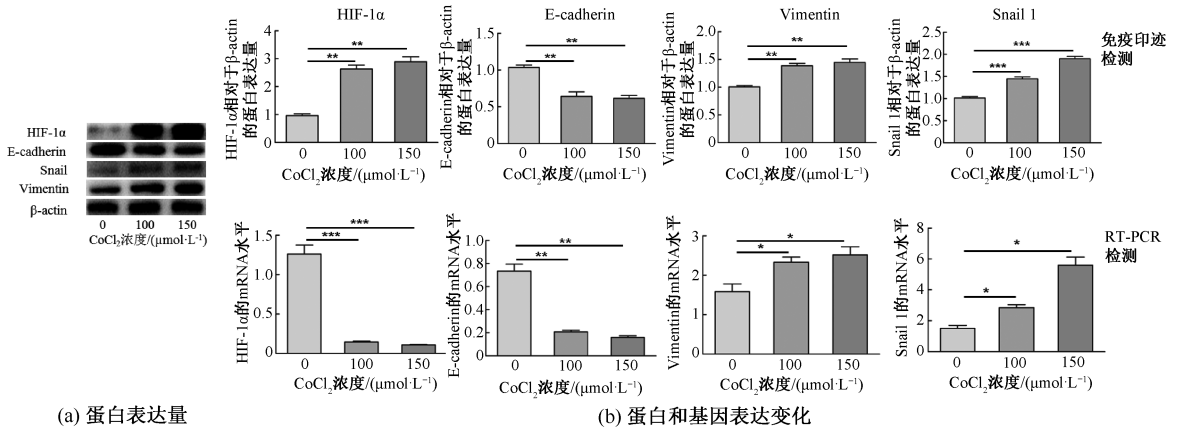


图3 不同浓度氯化钴处理对 HIF-1 $\alpha$ 、EMT 标志蛋白表达的影响

Fig. 3 Effects of  $\text{CoCl}_2$  at different concentration on the expression of HIF-1 $\alpha$  and EMT marker proteins (a) Protein expression relative to  $\beta$ -actin, (b) Changes in protein and mRNA levels of HIF-1 $\alpha$  and EMT marker

注: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

随后,检测模拟低氧处理后不同硬度基底上相关蛋白表达的变化。结果发现,模拟低氧

处理后,随着基底硬度增加,间质转录因子 Snail 1 的表达逐渐升高,而 E-cadherin、Vimentin

表达没有显著差异(见图4)。以上结果表明,低氧可以促进SW480细胞EMT的进程,基质

刚度的改变不能逆转这一过程,但能影响EMT的程度。

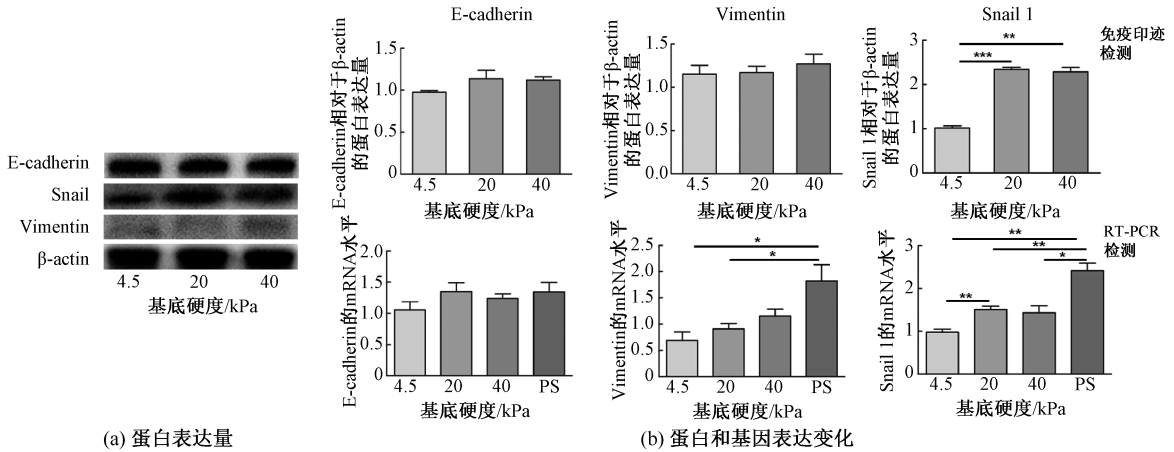


图4 模拟低氧环境中不同基底硬度对SW480细胞EMT标志蛋白表达的影响

Fig. 4 Effects of different substrate stiffness on the expression of EMT marker proteins in SW480 cells under simulated hypoxia environment (a) Protein expression relative to  $\beta$ -actin, (b) Changes in protein and mRNA levels of EMT marker

注: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ 。

## 2.4 低氧环境中不同硬度基底上EMT相关基因的表达

利用qPCR检测SW480在模拟低氧环境中不同硬度基底上EMT相关基因的表达情况。单独模拟低氧处理后,PS组SW480细胞E-cadherin mRNA表达明显下降,而Vimentin、Snail 1 mRNA的表达明显升高。模拟低氧处理后,随基底硬度增加,E-cadherin mRNA表达未发生明显变化;Vimentin、Snail 1 mRNA表达逐渐升高,但20 kPa与40 kPa组间比较没有显著变化。

同时,检测EMT过程中重要的细胞外基质降解蛋白基质金属蛋白酶MMP-2、MMP-9 mRNA的表达情况。结果发现,MMP-2 mRNA随基底硬度的增加而升高,4.5 kPa组与20 kPa、40 kPa组相比有显著性差异,而20 kPa组与40 kPa组比较差异不明显;MMP-9 mRNA表达4.5 kPa组MMP-9 mRNA表达显著低于40 kPa组,但与20 kPa组相比没有显著差异(见图5)。以上结果表明,低氧可以诱导SW480细胞EMT的发生,且硬基底比较基底更能促进EMT的进程。

## 3 讨论

研究证实,基质刚度和低氧微环境可调控肿瘤

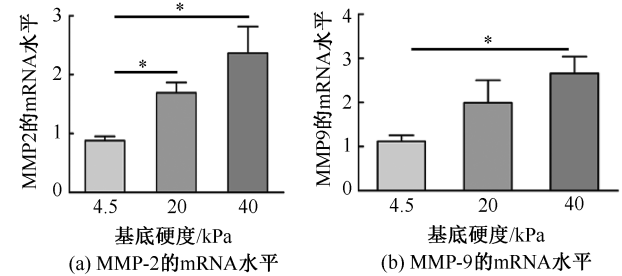


图5 模拟低氧环境中不同硬度基底对SW480细胞MMP-2和MMP-9 mRNA表达的影响

Fig. 5 Effects of substrate stiffness on the mRNA expression of MMP-2 and MMP-9 under simulated hypoxic environment (a) mRNA levels of MMP-2, (b) mRNA levels of MMP-9

注:18S rRNA为内参,\* $P < 0.05$ 。

细胞的生物学行为。上皮-间质转化是肿瘤细胞恶性发展的关键过程之一,可改变肿瘤细胞的侵袭转移能力<sup>[23]</sup>。本文主要研究模拟低氧微环境中基质刚度对人结肠癌细胞SW480上皮-间质转化的影响。

在肿瘤的发生发展中,伴随着ECM的异常沉积、交联和基质刚度的增加,导致肿瘤微环境力学性质的改变,从而影响肿瘤细胞的行为,促进肿瘤的发展<sup>[8]</sup>。Tang等<sup>[11]</sup>研究发现,结肠癌HCT-8细

胞在高硬度基底 (3.6 GPa) 上的铺展面积增大,而在低硬度基底 (21 kPa) 上细胞形态变圆。Leight 等<sup>[24]</sup> 研究也证实,人乳腺癌细胞在低硬度基底上形态变圆且成簇生长。本文发现,随着基底硬度的增加,模拟低氧环境中 SW480 细胞的形状由面积较小的近似圆形变为纺锤形的不规则形状,面积变大,说明低氧微环境下基底硬度改变可能导致细胞 EMT 的发生。

恶性肿瘤组织不同部位硬度和氧浓度不同,使其具有不同的肿瘤微环境<sup>[25-26]</sup>。肿瘤细胞在 EMT 过程中,通过激活 EMT 相关转录因子(如 Snail、Twist、ZEB1-2、Slug、FOXC2 等),使得上皮标志蛋白 E-cadherin 表达减少,而间充质样标志蛋白 N-cadherin、Vimentin 等表达升高<sup>[27]</sup>。Tilghman 等<sup>[28]</sup> 研究发现,人肺腺癌细胞在较软硬度基底上时上皮标志物 E-cadherin 表达升高,而 EMT 相关转录因子 Slug 表达降低,说明基底硬度可参与调节肿瘤 EMT 的过程。软基底还可以抑制细胞间黏附的形成,上调 MMPs 表达或增强其活性,从而增强细胞的侵袭能力<sup>[29]</sup>。本文结果显示,模拟低氧处理可以下调上皮标志蛋白 E-cadherin 表达,而基底硬度对 E-cadherin 表达没有影响。低氧协同基底硬度可以通过上调间质标志蛋白 Vimentin、转录因子 Snail 1 以及基质金属蛋白酶 MMP-2、MMP-9 的表达,促进 EMT 的发生。

在肿瘤的发展过程中,微环境的力学特性调节多种细胞因子的表达。基底硬度可通过多条分子路径调节肿瘤细胞 EMT。研究表明,基底硬度的增加可以通过 TGF- $\beta$ 1/activin A 促进结肠癌 EMT 的发生<sup>[9]</sup>。Dupont 等<sup>[30]</sup> 研究证明,具有 pdz 结合基序的 Yes 相关蛋白/转录共激活因子(YAP/TAZ) 活性受 ECM 刚度和细胞形状的调节;且硬基底可通过 MAPK-YAP 信号增强有氧糖酵解加速肝癌细胞的迁移<sup>[31]</sup>。肿瘤细胞还可通过整合素-Rho 蛋白、FAK/p-paxillin/vinculin、TWIST1-G3BP2、ROCK、EGFR 等信号通路促进肿瘤细胞的增殖、破坏细胞间隙连接,并向周围正常组织浸润<sup>[32-34]</sup>。低氧微环境也通过多条信号通路参与诱导 EMT 的发生,包括 TGF- $\beta$ 、Wnt- $\beta$ -catenin、NF- $\kappa$ B、Notch 和 Hedgehog (SHH) 通路等<sup>[27]</sup>。Liu 等<sup>[35]</sup> 研究发现,低氧条件可以通过 Notch 信号通路上调 Orai1 的表达促进结肠

癌的转移和血管生成。低氧协同基底硬度促进结肠癌细胞 SW480 EMT 发生的分子机制有待进一步研究。

## 4 结论

本文研究结肠癌细胞 SW480 在低氧微环境中对不同硬度基质的响应情况。结果显示,低氧条件下不同硬度基质可以改变细胞的表型。随着基质硬度增加,SW480 细胞向间充质样细胞转化,低氧可促进转化的进程,导致 EMT 的发生。本研究结果为低氧和基质硬度对 SW480 细胞 EMT 的协同调控提供新的方向,也为进一步开发治疗肿瘤的新药物提供相应的实验依据。

## 参考文献:

- [1] 王锡山. 从中美结肠直肠癌流行病学特征看结直肠癌早诊早治的重要性[J]. 中华结直肠疾病电子杂志, 2021, 10(1): 26-33.
- [2] 刘志娟, 魏尔清, 卢韵碧. 上皮-间质转化在肿瘤发生发展中的作用研究进展[J]. 浙江大学学报(医学版), 2015, 44(2): 211-216.
- [3] FAN F, SAMUEL S, EVANS KW, *et al.* Overexpression of snail induces epithelial-mesenchymal transition and a cancer stem cell-like phenotype in human colorectal cancer cells [J]. *Cancer Med*, 2012, 1(1): 5-16.
- [4] FRISCH SM, SCHALLER M, CIEPLY B. Mechanisms that link the oncogenic epithelial-mesenchymal transition to suppression of anoikis [J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(1): 21-29.
- [5] MITRA A, MISHRA L, LI S. EMT, CTCs and CSCs in tumor relapse and drug-resistance [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(13): 10697-10711.
- [6] 秦翔, 吕晓莹, 李顺, 等. 基质刚度通过调节 YAP 活化控制乳腺癌细胞的耐药性[J]. 医用生物力学, 2019, 34(2): 121-126.  
QIN X, LV XY, LI S, *et al.* Matrix stiffness regulates drug resistance of breast cancer cells through YAP activation [J]. *J Med Biomech*, 2019, 34(2): 121-126.
- [7] LOPEZ JI, KANG I, YOU WK, *et al.* *In situ* force mapping of mammary gland transformation [J]. *Integr Biol*, 2011, 3(9): 910-921.
- [8] 张小梅, 吕永钢, 徐志玲, 等. 基质力学对肿瘤发生发展及肿瘤细胞生物学行为影响的研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2014, 41(6): 532-541.
- [9] BAUER J, EMON MAB, STAUDACHER JJ, *et al.* Increased stiffness of the tumor microenvironment in colon

- cancer stimulates cancer associated fibroblast-mediated prometastatic activin A signaling [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 50.
- [10] SHIBAHARA K, OTA M, HORIGUCHI M, *et al.* Production of gastrointestinal tumors in mice by modulating latent TGF- $\beta$ 1 activation [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(1): 459-468.
- [11] TANG X, KUHNLENSCHMIDT TB, ZHOU J, *et al.* Mechanical force affects expression of an *in vitro* metastasis-like phenotype in HCT-8 cells [J]. *Biophys J*, 2010, 99(8): 2460-2469.
- [12] SUNG JJ, LAU JY, GOH KL, *et al.* Asia Pacific Working Group on Colorectal Cancer. Increasing incidence of colorectal cancer in Asia; Implications for screening [J]. *Lancet Oncol*, 2005, 6(11): 871-876.
- [13] CHEN L, SHI Y, YUAN J, *et al.* HIF-1 alpha overexpression correlates with poor overall survival and disease-free survival in gastric cancer patients post-gastrectomy [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90678.
- [14] YANG QC, ZENG BF, DONG Y, *et al.* Overexpression of hypoxia-inducible factor-1alpha in human osteosarcoma; correlation with clinicopathological parameters and survival outcome [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2007, 37(2): 127-134.
- [15] BABA Y, NOSHO K, SHIMA K, *et al.* HIF1A overexpression is associated with poor prognosis in a cohort of 731 colorectal cancers [J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(5): 2292-2301.
- [16] MU L, ZHU N, ZHANG J, *et al.* Type 2 diabetes, insulin treatment and prognosis of breast cancer [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2017, 33(1): e2823.
- [17] LAGORY EL, GIACCIA AJ. The ever-expanding role of HIF in tumour and stromal biology [J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(4): 356-365.
- [18] 郑丹. 用于细胞培养的聚乙烯醇/海藻酸钙水凝胶力学性能的模拟及定量控制[D]. 重庆: 重庆大学, 2014.
- [19] 邹小兵, 刘美霞, 于光磊, 等. 用于细胞培养的聚乙烯醇水凝胶力学性能模拟及定量控制 [J]. *世界科技研究与发展*, 2013, 35(6): 679-682.
- [20] 陈瑜君, 毛仁, 刘保娟, 等. 剪切波弹性成像测量正常回结肠肠壁硬度 [J]. *中国超声医学杂志*, 2016, 32(4): 343-345.
- [21] TANG X, KUHNLENSCHMIDT TB, LI Q, *et al.* A mechanically-induced colon cancer cell population shows increased metastatic potential [J]. *Mol Cancer*, 2014, 13: 131.
- [22] CIASCA G, PAPI M, MINELLI E, *et al.* Changes in cellular mechanical properties during onset or progression of colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(32): 7203-7214.
- [23] LAMOUILLE S, XU J, DERYNCK R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3): 178-196.
- [24] LEIGHT JL, WOZNIAK MA, CHEN S, *et al.* Matrix rigidity regulates a switch between TGF- $\beta$ 1-induced apoptosis and epithelial-mesenchymal transition [J]. *Mol Biol Cell*, 2012, 23(5): 781-791.
- [25] 孙玉川, 李红, 罗庆, 等. 肿瘤组织力学异质性与肿瘤细胞的上皮-间质转化 [J]. *医用生物力学*, 2021, 36(4): 658-663.
- [26] SUN YC, LI H, LUO Q, *et al.* Mechanical heterogeneity of tumor tissues and epithelial-mesenchymal transition of tumor cells [J]. *J Med Biomech*, 2021, 36(4): 658-663.
- [27] KAO SH, WU KJ, LEE WH. Hypoxia, epithelial-mesenchymal transition, and TET-mediated epigenetic changes [J]. *J Clin Med*, 2016, 5(2): 24.
- [28] HAPKE RY, HAAKE SM. Hypoxia-induced epithelial to mesenchymal transition in cancer [J]. *Cancer Lett*, 2020, 487: 10-20.
- [29] TILGHMAN RW, COWAN CR, MIH JD, *et al.* Matrix rigidity regulates cancer cell growth and cellular phenotype [J]. *PLoS One*, 2010, 5(9): e12905.
- [30] GU Z, LIU F, TONKOVA EA, LEE SY, *et al.* Soft matrix is a natural stimulator for cellular invasiveness [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(4): 457-469.
- [31] DUPONT S, MORSUT L, ARAGONA M, *et al.* Role of YAP/TAZ in mechanotransduction [J]. *Nature*, 2011, 474(7350): 179-183.
- [32] LIU QP, LUO Q, DENG B, *et al.* Stiffer matrix accelerates migration of hepatocellular carcinoma cells through enhanced aerobic glycolysis via the MAPK-YAP signaling [J]. *Cancers*, 2020, 12(2): 490.
- [33] WEI SC, FATTET L, TSAI JH, *et al.* Matrix stiffness drives epithelial-mesenchymal transition and tumour metastasis through a TWIST1-G3BP2 mechanotransduction pathway [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(5): 678-688.
- [34] LIU Q, LUO Q, JU Y, *et al.* Role of the mechanical microenvironment in cancer development and progression [J]. *Cancer Biol Med*, 2020, 17(2): 282-292.
- [35] PASZEK MJ, ZAHIR N, JOHNSON KR, *et al.* Tensional homeostasis and the malignant phenotype [J]. *Cancer Cell*, 2005, 8(3): 241-254.
- [36] LIU X, WAN X, KAN H, *et al.* Hypoxia-induced upregulation of Orai1 drives colon cancer invasiveness and angiogenesis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 832: 1-10.