

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.10.002

MiR-301b 抑制转录因子 Klf4 影响肝癌细胞迁移 *

董笑 王凡 刘传 宋卫峰 李琦[△]

(上海交通大学附属第一人民医院肿瘤中心 上海 200080)

摘要 目的:探讨 miR-301b 对肝癌细胞迁移能力的影响及其分子机制,为肝癌的分子靶向治疗研究提供新线索。**方法:**体外培养人肝癌细胞株 SK-Hep-1、HCC-LM3 和人永生化肝细胞株 L02,采用 RT-PCR 方法检测 miR-301b 表达。通过生物信息学软件 Targetscan 及 miRanda 预测 miR-301b 的靶基因,筛选出转录因子 Klf4 基因为 miR-301b 的下游靶基因,通过双荧光素酶报告基因实验和 Western Blot 实验证明其调控作用。通过划痕和 Transwell 实验探究 miR-301b 靶向 Klf4 基因对肝癌细胞迁移性的影响,Western Blot 检测 miR-301b 对上皮间质转化标记物 E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达的影响。**结果:**与正常肝细胞相比,肝癌细胞株中 miR-301b 表达水平明显升高。瞬时转染 miR-301b mimic 后,实验组 miR-301b 的表达显著高于对照组;瞬时转染 miR-301b inhibitor 后,实验组 miR-301b 的表达显著低于对照组。双荧光素酶报告基因实验显示:miR-301b 直接作用于 Klf4 基因的 3'UTR 区,并下调 Klf4 蛋白的表达,与软件预测结果相符合。划痕实验及 Transwell 迁移实验显示:miR-301b 通过下调 Klf4 基因,促进肝癌细胞的迁移。进一步实验显示:过表达 miR-301b 显著下调 E-cadherin 的表达,而上调 N-cadherin 的表达。**结论:**miR-301b 在肝癌细胞 SK-Hep-1、HCC-LM3 中高表达,可能通过抑制靶基因 Klf4 的表达,促进肝癌的迁移,miR-301b 可能参与了肝癌细胞的上皮间质转化过程。

关键词:MicroRNA-301b;Klf4;肝细胞癌;迁移

中图分类号:R-33;R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)10-1806-06

MiR-301b Affects the Migration of Hepatocellular Carcinoma by Inhibiting Klf4*

DONG Xiao, WANG Fan, LIU Chuan, SONG Wei-feng, LI Qi[△]

(Department of Oncology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200080, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of miR-301b on the migration of hepatocellular carcinoma cells and the underlying molecular mechanisms. **Methods:** Human liver cancer cell lines including SK-Hep-1, HCC-LM3 and human immortalized liver cell line L02 were cultured in vitro. The expression of miR-301b was detected by RT-PCR. Through bioinformatics software Targetscan and miRanda, we predicted target genes of miR-301b and selected transcription factor Klf4 gene as the downstream target gene of miR-301b. Through the dual luciferase reporter gene experiment and Western Blot experiment, we proved its regulating effect. The role of miR-301b on the migration of hepatocellular carcinoma cells were verified by wound healing assay and transwell migration assay. The effect of miR-301b on the expression of E-cadherin and N-cadherin were investigated by Western Blot. **Results:** Compared with human immortalized liver cell line L02, the expression of miR-301b in HCC cell lines were significantly increased. After being transfected with miR-301b mimic, the expression of miR-301b was significantly improved than that of the control group. And the expression of miR-301b was significantly decreased than that of the control group after being transfected with miR-301b inhibitor. The dual-luciferase reporter gene experiment showed that miR-301b directly bound with Klf4's 3'UTR region and decreased the expression of its protein, which were consistent with the software predicting results. The wound healing and Transwell experiment results showed that miR-301b inhibited the migration of hepatocellular carcinoma by downregulating Klf4. Further experiments showed that overexpression of miR-301b significantly reduced the level of E-cadherin and increased the level of N-cadherin, which were involved in the process of EMT. **Conclusions:** miR-301b was over-expressed in SK-Hep-1 and HCC-LM3 cells, and promoted the migration ability of HCC cells by inhibiting the expression of Klf4 gene, which may be involved in epithelial mesenchymal transformation progress of HCC cells.

Key words: MicroRNA; Klf4; Hepatocellular carcinoma; Migration

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)10-1806-06

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81572310)

作者简介:董笑(1992-),女,硕士研究生,研究方向:消化道肿瘤的分子靶向治疗,电话:18800292763,E-mail:dongxiao92@outlook.com

△ 通讯作者:李琦,男,主任医师,博士生导师,研究方向:消化道恶性肿瘤临床与基础研究,E-mail:leeqi2001@hotmail.com

(收稿日期:2018-01-28 接受日期:2018-02-21)

前言

原发性肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)是我国最常见的恶性肿瘤之一,其发病率及死亡率居高不下^[1]。早期肝癌患者通过手术治疗、肝动脉化疗栓塞术(TACE)可以获得较理想的治疗效果。但大部分肝癌患者起病隐匿,合并基础肝病,早期症状不明显或不典型,早期诊断比较困难,确诊时往往已经丧失了手术时机^[2]。近年来,晚期肝癌患者通过化疗及分子靶向药物也可获益,例如多种激酶抑制剂索拉非尼和瑞格非尼^[3]。然而,其五年生存率仍然很低^[4],这主要是由于肝癌极易发生术后肝内复发、肝内或肝外转移^[5]。因此,为深入肝癌的分子诊断和基因靶向治疗,对其发生与发展的分子机制的研究十分重要^[6]。

MicroRNAs 是一类长度为 17~25 个核苷酸的内源性非编码小 RNA,参与肿瘤血管生成、干细胞分化、神经元发育、肿瘤细胞代谢、增殖、凋亡、迁移、侵袭等过程^[7]。MicroRNAs 的表达紊乱可导致基因表达异常,它通过转录后调控编码基因及相关蛋白的降解,在肝癌等肿瘤的发生、发展中发挥重要的作用^[8]。转录因子是基因转录调控与转录后调控过程的组成部分,与 microRNAs 成为生物信息学的重要研究方向^[9]。研究显示 MiR-301b 基因在结肠癌^[10]、胰腺癌^[11]恶性黑色素瘤^[12]中均高表达,表明 miR-301b 在肿瘤的发生具有重要作用。但目前,miR-301b 在肝癌中的作用以及具体的分子机制尚不明确。本研究主要探讨了 miR-301b 对肝癌细胞迁移能力的影响及其分子机制,以期对肝癌的分子靶向治疗研究提供新线索。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝癌细胞株 SK-Hep-1、HCC-LM3 和人永生化的肝细胞株 L02 购于上海中科院典型培养物保藏委员会细胞库;胎牛血清购自 Gibco 公司;DMEM 购自 Hyclone 公司;0.25 %胰酶购自 Invitrogen 公司;蛋白裂解液(RIPA)、蛋白酶抑制剂(PMSF)及 BCA 蛋白浓度试剂盒购自上海碧云天公司;Trizol 试剂购自美国 Invitrogen 公司;氯仿、酒精(浓度为 75 %)、DEPC 水购自上海生工公司;引物、质粒、mimic、inhibitor 均购自广州锐博公司;逆转录试剂盒、RT-PCR 试剂盒购自 Takara 公司;Lipo2000 试剂盒购自 Invitrogen 公司;双荧光素报告基因试剂盒购自 Promega 公司;Transwell 小室购自 Corning 公司;普通显微镜及荧光显微镜、全自动酶标仪、NanoDrop 1000 及 ABI 7500 仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 细胞株培养于含 10 %胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,置于 37 °C,含 5 % CO₂ 的无菌培养箱。36 H-48 H 后细胞即可达对数生长期,吸走细胞培养皿中的旧培养基,用 2 mL 无菌 PBS 冲洗两遍。加入适量 0.25 %胰酶-0.02 % EDTA 消化细胞,显微镜下观察细胞形态的变化,当观察到细胞层出现间隙增大、细胞变圆,即可吸弃胰酶,加入 1 mL 含 10 %胎牛血清的 DMEM 培养基终止消化,1000 r/min 离心 3 min。吸弃离心管中上层培养基混合物,用含 10 %胎牛血清的 DMEM 培养基轻柔吹打制悬后,按 1:3 比例进行细胞传代,观察细胞生长状态并及时换液、补液。

1.2.2 瞬时转染 取对数生长期细胞接种于 6 孔板,每孔 2×10^5 个细胞,待细胞融合度为 60 %-70 %时进行瞬时转染,按照 Lipo2000 试剂盒剂量、步骤进行操作(每次均共转 1 μ g 带绿色荧光的 GFP 空质粒以便观察转染效率)。

1.2.3 细胞总 RNA 提取及实时定量 PCR(Real time PCR) 按照 Trizol 法提取细胞总 RNA,并用 NanoDrop1000 测定 RNA 的浓度,置于冰上备用。使用 PrimeScript RT reagent Kit gDNA Eraser (Perfect Real Time)逆转录试剂盒进行逆转录反应,所得 cDNA 存放于 -20 °C 冰箱。使用 miScript SYBR Green PCR Kit 及 ABI 7500 检测仪检测 miR-301b 表达。

1.2.4 蛋白提取及浓度测定 取对数生长期细胞,预冷 PBS 冲洗三遍后,裂解液 RIPA 与蛋白酶抑制剂 PMSF 按 100:1 的比例配制,加入适量 RIPA+PMSF 混合液裂解细胞,冰上反应 20 min 后,于 4 °C,12000 r/min 离心 30 min,上清液即为蛋白液,使用 BCA 蛋白浓度试剂盒测定蛋白浓度,随后加入 25 %体积 5 $\times$ 蛋白上样缓冲液,100 °C 加热 10 min 处理使蛋白变性。

1.2.5 miR-301b 靶基因预测 通过 Targetscan 及 miRanda 网站预测 miR-301b 的未知靶基因为转录因子 Klf4。根据其靶基因 3'UTR 区与 miR-301b 结合位点构建野生型及突变型 Klf4 荧光素酶表达载体,即为 WT-vector、MUT-vector。将其分别与 miR-301b mimic、miR-301b inhibitor 共转染,进行双荧光素报告基因实验检测双荧光素活性。进一步在细胞内转染 miR-301b mimic、miR-301b inhibitor,利用 Western Blot 实验(见 1.2.6)检测 Klf4 蛋白的表达变化。

1.2.6 Western Blot 按照对照、miR-301b mimic、miR-301b inhibitor 分组,于转染 48 H 后收取蛋白。依次按照配胶、上样、电泳、转膜、封闭、4 °C 敷一抗过夜、常温敷二抗、显影的顺序进行 Western blot 实验,检测 Klf4、E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达水平的变化。

1.2.7 划痕实验 取对数生长的 SK-Hep-1、HCC-LM3 细胞,消化后进行细胞计数并铺板,细胞融合度达到 70 %左右时,按照对照组、mimic 组、mimic-klf4 组(SK-Hep-1 细胞);对照组、inhibitor 组、inhibitor-siklf4 组(HCC-LM3 细胞)进行转染。转染后 24 H 进行划痕实验。具体:持 10 μ L 枪头垂直划过培养皿底部,用无菌 PBS 小心冲走划落的细胞,进行 0 H 拍照,并记录位置。24 H 后根据记录位置再次拍照。

1.2.8 Transwell 迁移实验 细胞按照对照组、mimic 组、mimic-klf4 组(SK-Hep-1 细胞);对照组、inhibitor 组、inhibitor-siklf4 组(HCC-LM3 细胞)转染,用胰酶消化后,高糖 DMEM 培养基重悬,进行细胞计数。取孔径为 8.0 μ m 的 Transwell 小室置于 24 孔板上,上室内接种 2×10^5 个细胞,加入不含胎牛血清的 DMEM 共计 100 μ L,下室加入 700 μ L 含有 10 %胎牛血清的 DMEM。培养 36 H 后,取出小室,用棉签擦去上室内未迁移的细胞,甲醛固定 30 min,纯水冲洗后,结晶紫染色 20 min,冲洗、晾干后显微镜下拍照并计数。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析,实验均重复三次,实验结果以均数 $\pm$ 标准差表示,两组间的均数差异用 t 检验分析,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-301b 在肝癌细胞中的表达

如图 1 所示,miR-301b 在肝癌细胞株(SK-Hep-1、HCC-LM3)中的表达均高于人永生化肝细胞 L02($P<0.05$),提示肝癌细胞内 miR-301b 的表达异常可能参与了肝癌的发生发展。

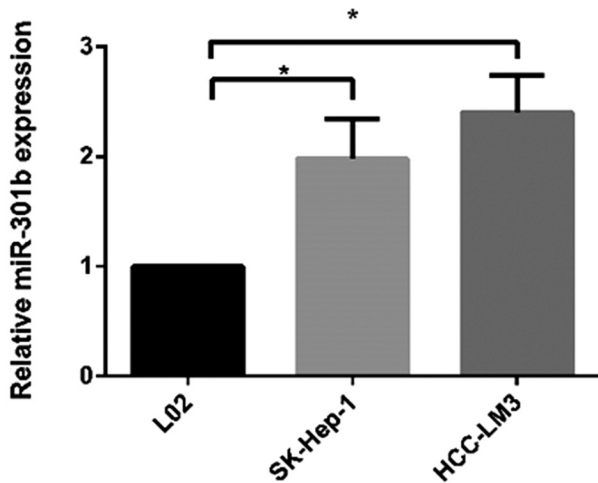


图 1 miR-301b 在 L02、SK-Hep-1 和 HCC-LM3 细胞的表达

Fig.1 The expression of miR-301b in L02, SK-Hep-1 and HCC-LM3 cells

2.2 瞬时转染效率的验证

细胞每次进行瞬时转染时均共转 GFP 空质粒,24 H 后于倒置荧光显微镜下观察转染效率,见图 2A。根据图 1 结果,SK-Hep-1 细胞中 miR-301b 的表达较 HCC-LM3 细胞的表达低,故 SK-Hep-1 细胞瞬时转染 miR-301b mimic,而 HCC-LM3 细胞瞬时转染 miR-301b inhibitor。SK-Hep-1 细胞转染 miR-301b mimic 后,miR-301b 的表达较对照组中明显增加($P<0.05$),HCC-LM3 细胞转染 miR-301b inhibitor 后,miR-301b 的表达较对照组明显减少($P<0.05$),见图 2B。以上结果提示这两个 RNA 干扰试剂的有效性。

2.3 miR-301b 的靶基因预测及验证

通过生物信息学软件预测 miR-301b 的未知靶基因,按照评分高低及已有研究进行排列后,显示可能为转录因子 Klf4。在 Klf4 的 3'UTR 区存在 miR-301b 的结合位点,见图 3A。Klf4 的 WT-vector、MUT-vector 与空白对照、miR-301b mimic 共转后,进行双荧光素酶报告基因实验。结果发现,野生型 Klf4 载体与 miR-301b mimic 共转染的细胞中荧光素酶活性明显降低($P<0.05$)。见图 3B。而在 SK-Hep-1 和 HCC-LM3 细胞中转染 miR-301b mimic 后,Klf4 蛋白表达降低;转染 miR-301b inhibitor 后,Klf4 蛋白表达升高。见图 4。由此可见,miR-301b 基因直接靶向转录因子 Klf4 的 3'UTR 端,并降低 Klf4 蛋白表达。

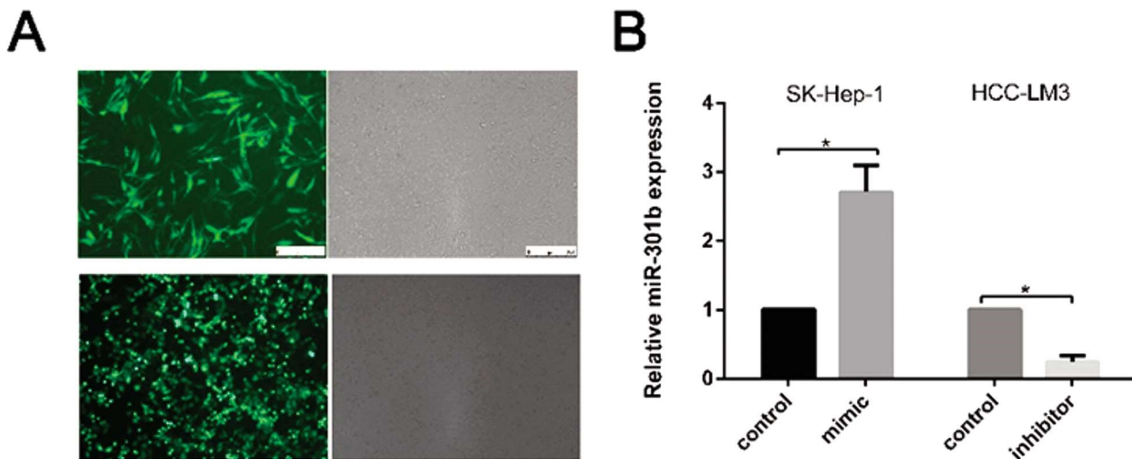


图 2 转染效率的验证

Fig.2 Verification of the Transfection efficiency

Note: A: GFP green fluorescence was observed by fluorescence microscope. B: The level of miR-301b gene after transfection.

2.4 miR-301b 对肝癌细胞迁移能力的影响

细胞按对照组、miR-301b mimic 组、miR-301b mimic-klf4 组(SK-Hep-1 细胞);对照组、miR-301b inhibitor 组、miR-301b inhibitor-siklf4 组(HCC-LM3 细胞)进行转染后,采用划痕实验及 Transwell 迁移实验验证对肝癌细胞迁移力的影响。实验结果显示:miR-301b mimic 组较对照组细胞迁移能力增高($P<0.01$),而 miR-301b mimic-klf4 组较 miR-301b mimic 组其细胞迁移能力降低($P<0.05$),这说明 miR-301b mimic 可以促进肝癌细胞迁移,并可以被 Klf4 质粒逆转;miR-301b inhibitor 组较对照组细胞迁移能力降低($P<0.05$),而 miR-301b inhibitor-siklf4 组较 miR-301b inhibitor 组其细胞迁移能力增强($P<0.05$),这说明

miR-301b inhibitor 抑制肝癌细胞的迁移,并可以被 siklf4 质粒逆转。见图 5、图 6。

2.5 miR-301b 对肝癌细胞上皮间质化 (epithelial to mesenchymal transition, EMT)过程的影响

在 SK-Hep-1、HCC-LM3 细胞株中,转染 miR-301b mimic 48 H 后,Western Blot 实验结果显示,上皮细胞标志物 E-cadherin 表达较对照组明显减少,而间质细胞标志物 N-cadherin 表达明显增高;转染 miR-301b inhibitor 后,上皮细胞标志物 E-cadherin 表达较对照组明显增加,而间质细胞标志物 N-cadherin 表达明显降低,见图 7。

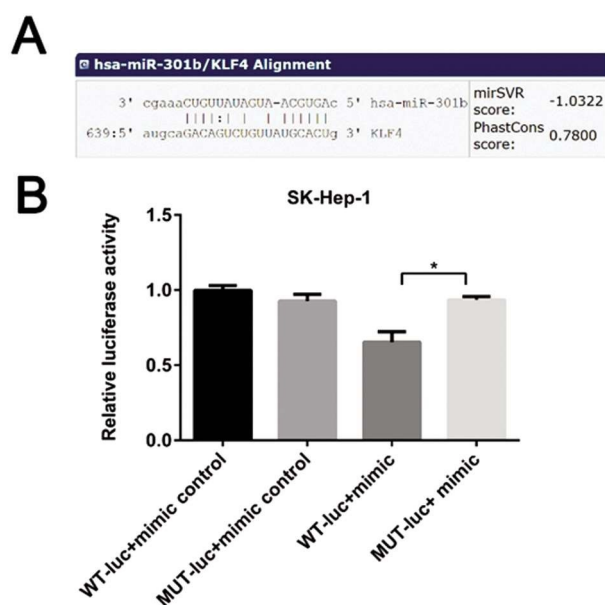


图3 Klf4 是 miR-301b 潜在的一个靶基因

Fig.3 Klf4 was a potential target of miR-301b

Note: A: The binding site of miR-301b in Klf4 3'-UTR. B: Luciferase reporter assay.

3 讨论

原发性肝细胞癌是一类恶性程度极高的肿瘤,其病因及机体的分子机制尚不十分明确,普遍认为是一个多因素、多阶段、

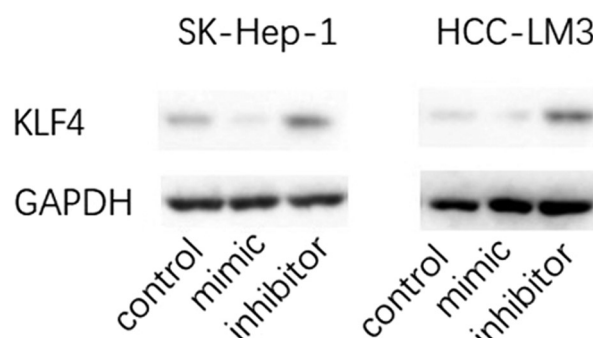


图4 miR-301b 抑制 KLF4 蛋白表达

Fig. 4 miR-301b inhibited the expression of KLF4 protein

多步骤的复杂过程^[13,14]。microRNA 是近年来生命科学新的研究热点之一。前人的研究发现 miR-301b 属于促癌基因^[15-17]。本研究中证实肝癌细胞株 SK-Hep-1、HCC-LM3 中 miR-301b 的呈高表达。在转染了 miR-301b 的模拟物和抑制物后,细胞内 miR-301b 的相应升高和降低,这说明模拟物和抑制物对于 miR-301b 的干扰是有效的,转染后可以用于后续实验。生物信息学软件预测 Klf4 可能是 miR-301b 的下游靶基因。Klf4 是一个结构上高度保守、具有锌指结构的转录因子,Klf4 主要在胃肠道、血管内皮细胞中表达,故称 " 胃肠富集型 Klf"^[18]。在肝癌中,Klf4 呈低表达状态^[19],并与不良预后相关,是一个公认的抑癌基因^[20,21]。随后,通过双荧光素酶报告基因和 Western Blot 实验证明 miR-301b 与 Klf4 3'UTR 区直接结合并抑制 Klf4 蛋白的表达。

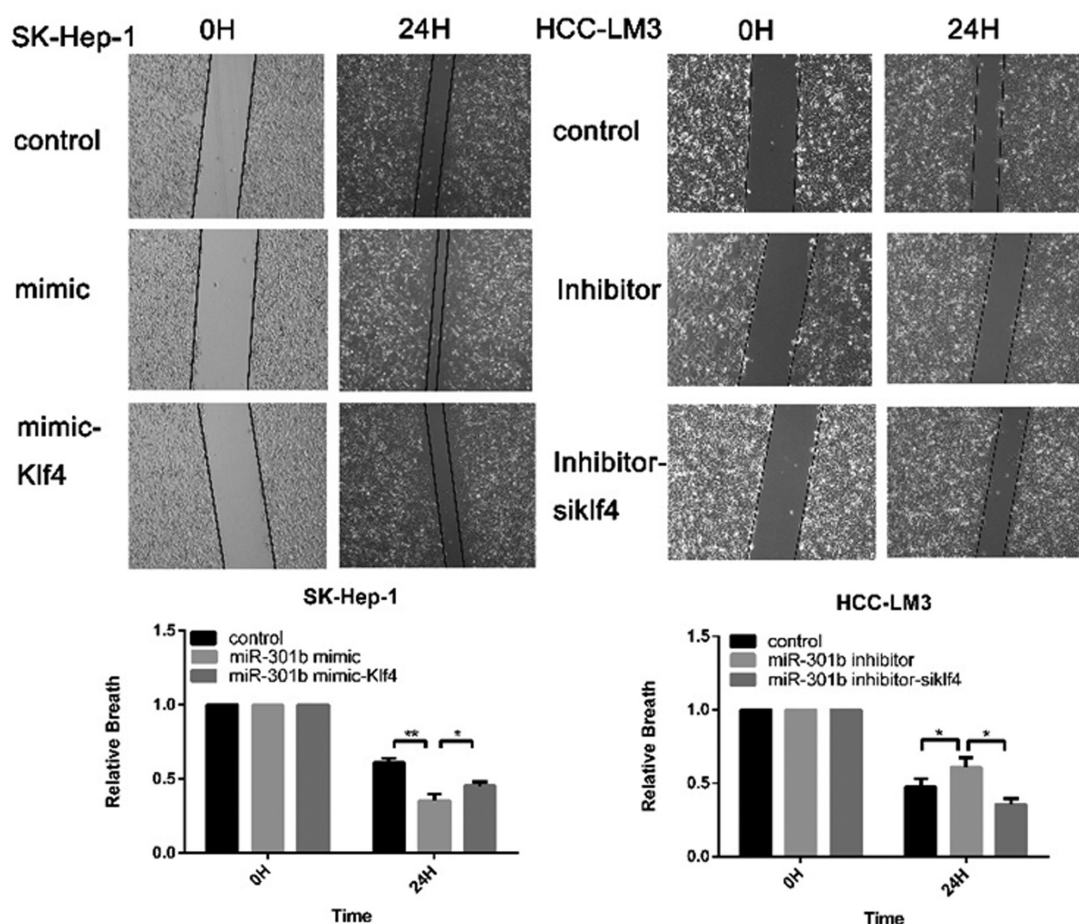


图5 miR-301b 促进肝癌细胞迁移(划痕实验)

Fig. 5 miR-301b promoted the migration of hepatocellular carcinoma (wound healing assay)

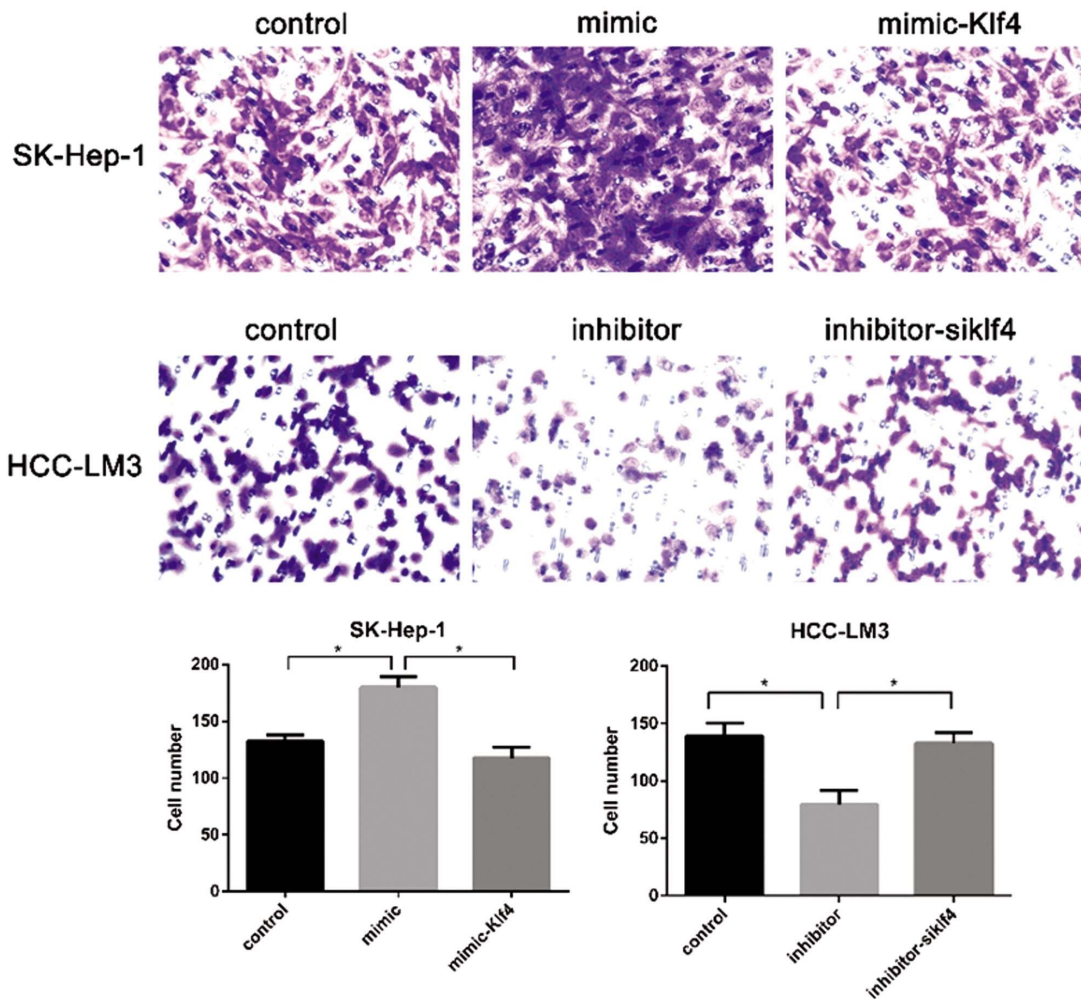


图 6 miR-301b 促进肝癌细胞迁移(Transwell 迁移实验)

Fig. 6 miR-301b promoted the migration of hepatocellular carcinoma (Transwell migration assay)

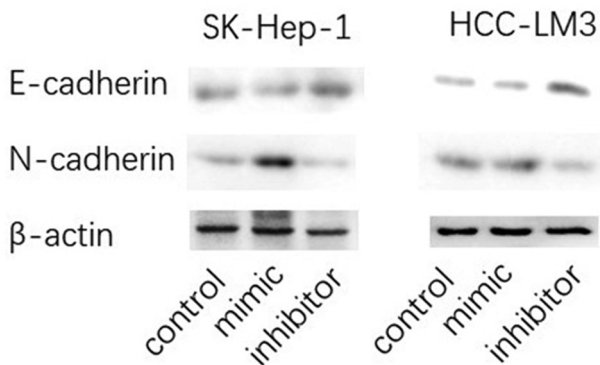


图 7 miR-301b 影响 E-cadherin、N-cadherin 蛋白表达

Fig.7 miR-301b affected the expression of E-cadherin, N-cadherin protein.

肿瘤细胞的侵袭性与转移性是恶性肿瘤的基本生物学特征之一,尤其是在肿瘤发展的终末阶段,快速浸润和转移是造成癌症预后不良的最主要原因。侵袭和转移过程包括细胞间黏附性改变、细胞外基质(ECM)降解、细胞迁移及血管生成等过程。细胞的迁移行为广泛存在于组织发育、皮肤愈合、血管发生等许多正常的生理过程中,也存在于肿瘤发生与发展的病理过程中。在肿瘤细胞的迁移过程中,涉及细胞极化产生、细胞和细胞外基质间黏附力的变化、细胞骨架重排、ECM 的重塑等,这些步骤在迁移过程中的协调也涉及复杂的分子信号调节^[22]。由此,我们对 miR-301b 在肝癌细胞的迁移特性进行了研究。通过

转染 miR-301b 的模拟物及抑制物观察 miR-301b 基因对肝癌细胞迁移能力的影响,划痕实验和 Transwell 迁移结果均显示,miR-301b 的模拟物促进肝癌细胞的迁移,其作用可以被 Klf4 质粒逆转;miR-301b 的抑制剂抑制肝癌的迁移,其作用可以被 siklf4 逆转,这说明 miR-301b 调控 Klf4 共同参与肝癌细胞的迁移过程。

研究表明 EMT 与肝癌细胞的侵袭、转移和肿瘤耐药密切相关。EMT 过程最明显的标志性变化是上皮标志物 E-cadherin 的减少或丢失,间质标志物 N-cadherin 的表达升高^[23,24],表现为肿瘤细胞极性缺失,细胞间连接疏松,胞内骨架蛋白发生重建。其中,E-cadherin 蛋白属于 I 型钙黏着蛋白,主要功能是介导细胞间的黏附连接、维持上皮细胞特性等^[25]。E-cadherin 的异常表达是肿瘤侵袭和转移过程中一个重要的前提条件^[26]。本研究结果表明 miR-301b 可以通过下调 E-cadherin 蛋白及上调 N-cadherin 蛋白的表达来促进 EMT 过程,进而促进肝癌细胞的迁移能力。

综上所述,miR-301b 在肝癌细胞中高表达,通过抑制靶基因 Klf4 来增强肝癌细胞迁移能力。这为进一步研究 miR-301 在肝癌细胞中的分子机制奠定了基础,为肝癌的分子诊断和基因靶向治疗提供了新思路。

参考文献 (References)

- [1] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015

- [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2016, 66(2): 115-132
- [2] Yuan J, Ji H, Xiao F, et al. MicroRNA-340 inhibits the proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma cells by targeting JAK1[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2017, 483(1): 578-584
- [3] Ueshima K, Nishida N, Kudo M. Sorafenib-Regorafenib Sequential Therapy in Advanced Hepatocellular Carcinoma: A Single-Institute Experience[J]. Digestive Diseases, 2017, 35(6): 611-617
- [4] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2018[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30
- [5] ST O, DA A. Liver Resection and Surgical Strategies for Management of Primary Liver Cancer[J]. Cancer Contro, 2018, 1(25): 1-15
- [6] Zhang Y, Wei Y, Li X, et al. microRNA-874 suppresses tumor proliferation and metastasis in hepatocellular carcinoma by targeting the DOR/EGFR/ERK pathway [J]. Cell Death & Disease, 2018, 9(2): 130-143
- [7] Hayes C N, Chayama K. MicroRNAs as Biomarkers for Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma [J]. International journal of molecular sciences, 2016, 280(17): 1-17
- [8] Wong C, Tsang F H, Ng I O. Non-coding RNAs in hepatocellular carcinoma: molecular functions and pathological implications[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2018, 15(3): 137-151
- [9] Zhao Y, Wang F, Chen S, et al. Methods of MicroRNA Promoter Prediction and Transcription Factor Mediated Regulatory Network[J]. BioMed Research International, 2017[Epub ahead of print]
- [10] 徐虎,包乐群,吕胜启.miR-301a 促进人结肠癌细胞株 HT29 细胞侵袭与转移的机制[J].中国老年学杂志, 2017, 37(4): 1825-1827
Xu Hu, Bao Le-qun, Lv Sheng-qi. Mechanisms of miR-301a promoting the invasion and metastasis of human colon cancer cell line HT29 [J]. Journal of Chinese geriatrics, 2017, 37(4): 1825-1827
- [11] Xia X, Zhang K, Luo G, et al. Downregulation of miR-301a-3p sensitizes pancreatic cancer cells to gemcitabine treatment via PTEN[J]. Am J Transl Res, 2017, 4(9): 1886-1895
- [12] Cui L, Li Y, Lv X, et al. Expression of MicroRNA-301a and its Functional Roles in Malignant Melanoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 40: 230-244
- [13] Zhuang L K, Yang Y T, Ma X, et al. MicroRNA-92b promotes hepatocellular carcinoma progression by targeting Smad7 and is mediated by long non-coding RNA XIST [J]. Cell Death and Disease, 2016, 7(4): e2203
- [14] Sung M T, Hsu H T, Lee C C, et al. Kruppel-like factor 4 modulates the migration and invasion of hepatoma cells by suppressing TIMP-1 and TIMP-2[J]. Oncol Rep, 2015, 34(1): 439-446
- [15] Yan L, Wang Y, Liang J, et al. MiR-301b promotes the proliferation, mobility, and epithelial-to-mesenchymal transition of bladder cancer cells by targeting EGR1 [J]. Biochemistry and Cell Biology, 2017, 95(5): 571-577
- [16] Wang W, Liu M, Guan Y, et al. Hypoxia-Responsive Mir-301a and Mir-301b Promote Radioresistance of Prostate Cancer Cells via Downregulating NDRG2 [J]. Medical Science Monitor, 2016, 22: 2126-2132
- [17] Wu D, Chen B, Cui F, et al. Hypoxia-induced microRNA-301b regulates apoptosis by targeting Bim in lung cancer [J]. Cell Proliferation, 2016, 49(4): 476-483
- [18] Li Q, Song W, Wang W, et al. Suppression of epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma cells by Kruppel-like factor 4[J]. Oncotarget, 2016, 7(20): 29749-60
- [19] Tian C, Yao S, Liu L, et al. Klf4 inhibits tumor growth and metastasis by targeting microRNA-31 in human hepatocellular carcinoma[J]. Int J Mol Med, 2017, 39(1): 47-56
- [20] Sun H, Peng Z, Tang H, et al. Loss of KLF4 and consequential down-regulation of Smad7 exacerbate oncogenic TGF- β signaling in and promote progression of hepatocellular carcinoma[J]. Oncogene, 2017, 36(21): 2957-2968
- [21] Sun H, Tang H, Xie D, et al. Kruppel-like Factor 4 Blocks Hepatocellular Carcinoma Dedifferentiation and Progression through Activation of Hepatocyte Nuclear Factor-6 [J]. Clinical Cancer Research, 2016, 22(2): 502-512
- [22] Van S H, Storm C, Friedl P. Mechanoreciprocity in cell migration[J]. Nat Cell Biol, 2018, 1(20): 8-20
- [23] 阎龙,戴朝六.上皮-间质转化与肝细胞癌炎症微环境的关系研究[J].中国普外基础与临床杂志, 2017, (07): 885-889
Yan Long, Dai Zhao-liu. Researches about epithelial-mesenchymal transformation and inflammatory microenvironment of hepatocellular carcinoma [J]. Chinese general surgery basic and clinical journal, 2017, (07): 885-889
- [24] Ma P, Ni K, Ke J, et al. miR-448 inhibits the epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells by directly targeting the E-cadherin repressor ZEB1/2 [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2018, 243(5): 473-480
- [25] Lu M, Wu J, Hao Z, et al. Basolateral CD147 Induces Hepatocyte Polarity Loss by E-cadherin Ubiquitination and Degradation in Hepatocellular Carcinoma Progress [J]. Hepatology, 2018 [Epub ahead of print]
- [26] Thomas Brabletz, Raghu Kalluri, Nieto M A, et al. EMT in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2018, 2(18): 128-134