

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.09.005

MFN1 在肝癌转移中的调控作用研究 *

耿西林 常虎林 张 煜 海 军 张智勇 郑 伟 杜立学^Δ

(陕西省人民医院肝胆外科 陕西 西安 710068)

摘要 目的:探讨线粒体融合蛋白 MFN1(mito-fusion 1)在肝癌转移中的作用及其机制。**方法:**1).采用免疫组化实验检测 15 对肝癌转移灶组织与原发性肝癌组织中 MFN1 的表达,以明确肝癌转移时是否伴有 MFN1 表达的改变。2).采用 siRNA (small interference RNA)下调肝癌细胞中 MFN1 的表达后,提高 Transwell 迁移实验和 Transwell 侵袭实验分别检测其迁移和侵袭能力,通过实时荧光定量 PCR (Quantitative Real-time PCR, qRT-PCR) 和 Western blot 实验分别检测基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinase 1, MMP1)、MMP2、MMP7 及 MMP9 的 mRNA 和蛋白表达。**结果:**1)肝癌转移灶组织中 MFN1 表达显著低于原发性肝癌组织($P<0.05$)。2).下调 MFN1 表达后,肝癌细胞的迁移和侵袭能力显著升高,MMP7 的表达显著增加,而 MMP1、MMP2 与 MMP9 的表达无明显变化。**结论:**线粒体融合蛋白 MFN1 在肝癌转移组织中表达显著降低,可能通过激活 MMP7 表达,促进肝癌细胞侵袭和转移。

关键词:线粒体;线粒体融合蛋白 1;基质金属蛋白酶 7;转移;肝癌

中图分类号:R-33;R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)09-1624-05

Biological Function of MFN1 in the Metastasis of Hepatocellular Carcinoma Cells*

GENG Xi-lin, CHANG Hu-lin, ZHANG Yu, HAI Jun, ZHANG Zhi-yong, ZHENG Wei, DU Li-xue^Δ

(Department of Hepatobiliary Surgery, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the role of the mitochondrial fusion MFN1 in the metastasis of hepatocellular carcinoma (HCC) cells. **Methods:** 1. Immunohistochemistry assay was used for evaluating the expression of MFN1 in 15 paired metastatic and primary tissues of HCC to determine whether the expression of MFN1 was changed during metastasis. 2. After MFN1 was knocked-down in HCC cells by small interference RNA (siRNA), transwell migration and invasion assays were used to analyze the migration and invasion capabilities of HCC cells. qRT-PCR and western blot analysis were used for detection of expression levels of matrix metalloproteinase (MMPs) of MMP1, MMP2, MMP7 and MMP9. **Results:** The expression of MFN1 in metastatic tissues of HCC is significantly lower than their paired primary tissues. Knockdown of MFN1 upregulated the migration and invasion abilities, and the expression of MMP7 in HCC cells, while had no effect on the expressions of MMP1, MMP2 and MMP9. **Conclusions:** The expression of mitochondrial fusion factor MFN1 is downregulated in metastatic tissues, which may promote the invasion and metastasis of HCC cells by upregulating of MMP7 expression.

Key words: Mitochondria; MFN1; MMP7; Metastasis; Hepatocellular carcinoma

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

Article ID: 1673-6273(2019)09-1624-05

前言

线粒体是真核生物细胞内重要的半自主细胞器,在调控细胞代谢、凋亡及氧化还原平衡等重要生物学过程中发挥关键作用^[1,2]。细胞内线粒体数目因细胞种类不同而不同,可从几十个到成百上千个不等。心脏、骨骼肌及脑组织等能量需求旺盛的细胞中线粒体数目相对较高^[3,4]。研究显示细胞中的线粒体并不非以单个游离的形式存,而是彼此间通过不断的融合与分裂,进行着物质和信息的传递与交流。线粒体融合与分裂对于线粒体自身的大小、形态和空间分布进行着密切调控,并进而对调

控个体线粒体的生理功能^[5]。线粒体融合与分裂的异常与多种疾病的发生发展显著相关^[6,7],目前已在神经退行性疾病、糖尿病及心血管疾病中发现线粒体融合与分裂的异常^[8-11]。近年来,随着研究的深入,人们逐步在不同类型的肿瘤细胞中证实了线粒体融合与分裂的异常改变^[12,13],线粒体分裂在结肠癌、肺癌与乳腺癌中显著增强,而线粒体融合则往往被抑制,导致线粒体明显变短^[14-16]。然而,以往研究主要聚焦于线粒体融合分裂异常在肿瘤生长中的促进作用,在肿瘤转移中的研究相对较少,尤其是线粒体融合蛋白在肿瘤转移中的作用尚不清楚。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)可降解多

* 基金项目:陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2016JM8063);国家自然科学基金青年科学基金项目(81502085)

作者简介:耿西林(1981-),男,硕士,副主任医师,主要研究方向:肝癌发病分子机理, E-mail: gengxilin_xa@163.com

^Δ 通讯作者:杜立学(1963-),男,博士,主任医师,陕西省人民医院肝胆外科,主要研究方向:肝癌发病分子机理,

E-mail: lixuedu_xa@163.com, 电话: (029)85251331

(收稿日期:2018-08-23 接受日期:2018-09-18)

种细胞外基质成分,通过破坏肿瘤细胞外侵袭的组织学屏障而在肿瘤侵袭转移中发挥作用^[17,18]。MMPs 家族包含多个成员,其中 MMP1、MMP2、MMP7 及 MMP9 被认为是主要参与肿瘤侵袭转移调控的成员^[9]。但目前,线粒体融合与分裂异常在肝癌细胞 MMPs 表达调控中的作用尚不清楚。本研究旨在探讨线粒体融合关键分子 MFN1 在肝癌细胞转移中的调控作用及可能机制。

1 材料与方法

1.1 肝癌细胞系、组织样本与试剂

1.1.1 肝癌细胞系 高转移性的人肝癌细胞 MHCC97H 购自中科院上海细胞库,我室常规液氮冻存保种。

1.1.2 肝癌组织标本 共收集 15 对肝癌原发灶与转移灶组织样本,其中男性患者 11 例,女性 4 例。以上患者均经病理确诊为肝细胞肝癌、具有完整的临床资料,并在实验开展之前签署了知情同意,手术中取得组织样本后立即置于液氮中保存,直至后续固定包埋等病理操作。

1.1.3 试剂 1) 委托上海吉玛生物公司合成靶向 MFN1 分子的 siRNA 干涉片段,序列为:5'-GGAUCACAUUUUGUU-GAAGTT-3';对照用干涉片段序列为:5'-UUCUCCGAA-CGUGUCACGUTT-3'。2)MFN1、MMP1、MMP2、MMP7、MMP9 及 GAPDH(内参)引物由生工生物合成,MFN1 基因的上下游引物序列为(5'-3'):TGGCTAAGAAGGCGATTACTGC,TCTCC-GAGATAGCACCTCACC。MMP1 基因的上下游引物序列为(5'-3'):CACAGCTTTCCTCCACTGCTGCT,GGCATGGTCCACATCTGCTCTTG。MMP2 基因的上下游引物序列为(5'-3'):ACCTGGATGCCGTCGTGGAC,TGTGGCAGCACCAAGGGCA。MMP7 基因的上下游引物序列为(5'-3'):GAGTGAGCTAC-AGTGGGAACA,CTATGACGCGGGAGTTTAACAT。MMP9 基因的上下游引物序列为(5'-3'):AGACCTGGGCAGATTCCAAAC,CGGCAAGTCTTCCGAGTAGT。内参基因 GAPDH 上下游引物序列为:GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT,GGCT-GTTGTCATACTTCTCATGG。3)MFN1 与 MMP7 分子抗体均购自 abcam 公司,货号分别为:ab104585 与 ab56706;细胞 RNA 提取试剂盒(货号 R6834)与 cDNA 反转录试剂盒分别购自 OMEGA 与 TaKaRa 生物公司;蛋白裂解液(货号 P0013B)与定量试剂盒(货号 P0009)均购自碧云天生物公司。

1.2 实验方法与步骤

1.2.1 免疫组化检测 首先,将手术后获得的原发灶与转移灶肿瘤组织用福尔马林固定 24 h。随后,将组织用石蜡进行包埋并用切片机进行厚度为 4 μ m 的切片,切片在 65℃ 的温箱中烤片 2 h 后即可进行组化染色。染色前,需以此将切片置于二甲苯与梯度酒精中进行透明与水化。为避免固定剂对组织中抗原表位的影响,切片需进行柠檬酸高压修复。此外,切片还需经氧化氢浸泡以去除内源性过氧化物酶的影响。切片经一抗孵育前需滴加 BSA 进行抗原封闭 1 h,随后加入 PBS 稀释的 MFN1 抗体(1/200)于 4℃ 冰箱中反应过夜,次日用 PBS 清洗 3 次,每次 5 min。滴加二抗并继续置于 28℃ 温箱中反应 20 min,反应结束后用 PBS 洗 3 次,每次 5 min。最后,将配置好新鲜 DAB 滴加至组织表明进行显色 5 min,显色结束后滴加苏木精对细

胞核进行染色 2 min。所有染色结束后切片还需经梯度酒精与二甲苯进行水化与透明处理,最后用中性树脂进行封片。切片晾干后即可于显微镜下进行结果分析,染色强度共分为 4 个等级,依次为:阴性染色(0),弱阳性染色(1),中等阳性染色(2),强阳性染色(3)。

1.2.2 靶向 MFN1 表达的 siRNA 转染 siRNA 转染采用脂质体法(lip2000):首先,将对数生长期的肝癌细胞用胰蛋白酶进行消化并用细胞计数板计数,按 2×10^5 cell/孔的密度将细胞种至 6 孔板中,过夜培养使其贴壁。次日即可进行 siRNA 转染操作,转染步骤为:先将合成好的 siRNA 与脂质体用培养液进行稀释,静置 5 min 后将稀释好的二者混在一起,静置 25 min 后,用移液器将以上 100 μ L 混合液转加入接种有细胞的 6 孔板中,随后将 6 孔板置于培养箱培养,培养 6 h 后即可将培养液更换为含 10%血清的 DMEM 培养液,并置于培养箱中继续培养 24 h,培养结束后即可进行后续蛋白提取、侵袭与迁移等实验操作。

1.2.3 qRT-PCR 实验 按上步中方法对肝癌细胞中 MFN1 表达进行下调后,即可用 RNA 提取试剂盒对细胞内 RNA 进行提取,并用反转录试剂盒将所提 RNA 反转录为 cDNA。随后即可进行实时定量 PCR 反应,反应条件为:首先,94℃ 反应 3 min。随后依次经 94℃ 反应 1 min,60℃ 反应 1 min 及 72℃ 反应 1 min,共进行 35 个循环。最后,72℃ 反应 5 min。反应结束后,按 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法对各组相对表达进行计算。

1.2.4 Western Blot 实验 用胰蛋白酶消化离心细胞,之后加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液于冰上裂解 30 min,13000 转/min 离心 30 min 后收集上清即获得细胞内总蛋白,蛋白用 BAC 法进行浓度检测,随后加入上样缓冲液于沸水中煮 5 min,蛋白自然冷却后即可用加样器加入凝胶中进行电泳。蛋白在凝胶中进行充分分离后,即可将其转印至 PVDF 膜。抗体孵育前需将 PVDF 膜用 5%的脱脂奶粉封闭 1 h,滴加稀释好的一抗于膜表面后置于 4℃ 冰箱中反应过夜,PBST 洗膜三次,每次 5 min,滴加稀释好的二抗于膜表面并于 28℃ 下孵育 2 h,孵育结束后用 PBST 洗 3 次,每次 5 min,最后滴加 ECL 发光液对结果进行检测。

1.2.5 Transwell 迁移与侵袭实验 事先对肝癌细胞中 MFN1 表达进行 siRNA 转染,转染结束后用胰蛋白酶消化离心细胞。进行侵袭实验前,小室需提前用基质胶进行包被处理,而迁移实验则可直接进行后续操作。首先,将 500 μ L 含血清的培养液加入小室底部,随后放入小室并加入 50 μ L 事先配置好含 BSA (10 g/L) 的无血清培养液,最后将 200 μ L 密度为 2.5×10^5 cell/mL 的细胞加入小室内中。分别将小室置于培养箱中培养 24 h(迁移)或 48 h(侵袭)。用棉签将小室内未穿膜细胞擦去,穿膜细胞用 4%的甲醛固定 10 min,随后用结晶紫对细胞进行染色 10 min。最后,在显微镜下对穿膜细胞进行观察与拍照。

1.3 统计学分析

所有实验数据的分析均采用 SPSS 17.0 统计软件进行,组间差异比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 定义为组间差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌转移灶组织中 MFN1 表达显著下调

用免疫组化实验检测 15 对肝癌原发灶与转移灶组中 MFN1 表达并进行染色与强度分析,结果显示肝癌转移灶组织中 MFN1 表达显著低于原发灶组织($P<0.05$)。MFN1 在肝癌原

发灶与转移灶组织中免疫组化染色的典型结果见图 1A,15 对肝癌原发灶与转移灶组织中 MFN1 染色强度的统计分析结果见图 1B。

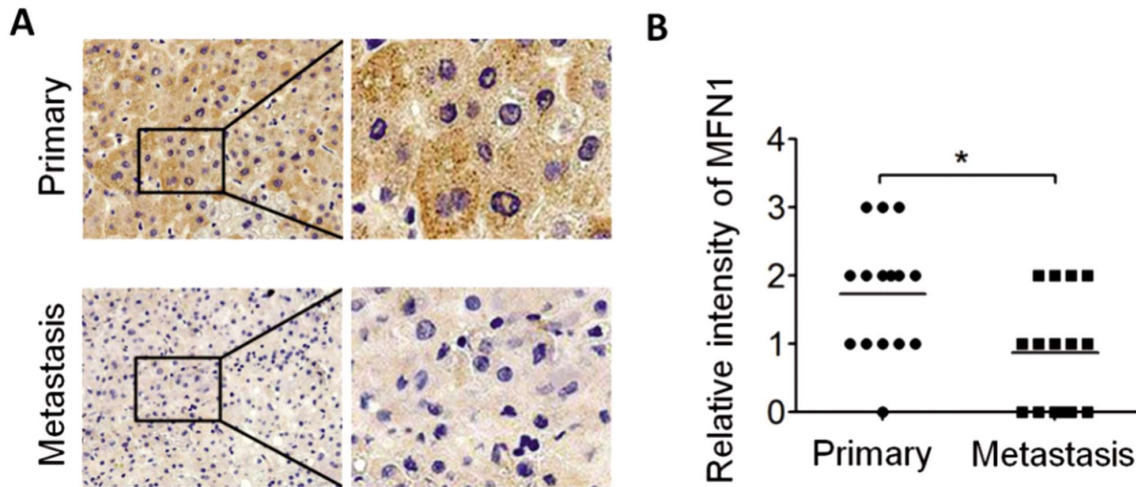


图 1 肝癌原发灶组织与转移灶组织中 MFN1 表达分析

A. MFN1 在原发灶与转移灶组织中的典型组染色结果;B. 15 对肝癌原发灶与转移灶组织中 MFN1 表达强度的统计分析

Fig. 1 Expression of MFN1 in the primary and metastatic tumor tissues of HCC

A. Representative IHC staining of MFN1 in the primary and metastatic tumor tissues of HCC; B. Statistical analysis of MFN1 IHC staining intensity between primary and metastatic tumor tissues of 15 paired HCC(N=10)

2.2 下调 MFN1 表达可显著促进肝癌细胞的迁移

为探讨线粒体融合关键蛋白 MFN1 在肝癌转移中的作用,我们事先合成了靶向 MFN1 表达的 siRNA 干涉片段,并对其

效率进行了 qRT-PCR 与 Western Blot 分析。如图 2 所示:向肝癌细胞中转染 siRNA 干涉片段 24 h 后,MFN1 的 mRNA 与蛋白水平均明显降低。

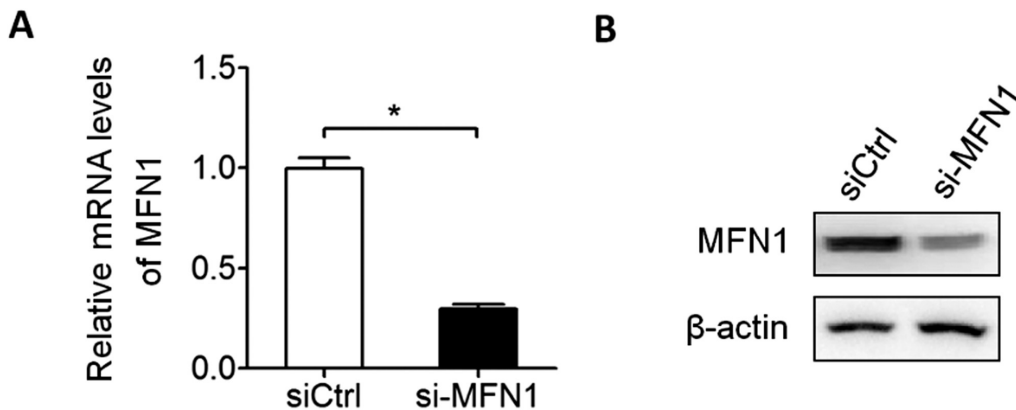


图 2 siRNA 下调肝癌细胞中 MFN1 表达的效率分析

A. qRT-PCR 分析;B. Western Blot 分析

Fig.2 Analysis for MFN1 interference efficiency by siRNA in HCC cells

A. qRT-PCR analysis;B. Western Blot analysis

用 siRNA 下调 MFN1 表达 24 h 后,用 Transwell 迁移实验(不加基质胶)检测其对肝癌细胞迁移能力的影响。如图 3 所示:MFN1 表达下调后,迁移至小室底面的细胞明显增多,提示 MFN1 可抑制肝癌细胞的迁移。

2.3 下调 MFN1 表达可显著促进肝癌细胞的侵袭

为进一步研究线粒体分裂因子 MFN1 在肝癌细胞侵袭中的作用,我们在用 siRNA 下调 MFN1 表达 24 h 后,用 Transwell 侵袭实验(加基质胶)分析了其对肝癌细胞侵袭能力的影

响。如图 4 所示:MFN1 表达下调后,侵袭至小室底面的细胞明显增多,提示 MFN1 可抑制肝癌细胞侵袭。

2.4 MFN1 的表达下调可上调肝癌细胞中 MMP7 的表达

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)可降解多种细胞外基质成分,通过破坏肿瘤细胞外侵袭的组织学屏障而在肿瘤侵袭转移中发挥关键作用。基于此,我们在用 siRNA 下调 MFN1 表达后,用 qRT-PCR 和 Western blot 实验对其中重要的参与肿瘤转移的 MMP1、MMP2、MMP7 与 MMP9 的表达进

行了检测,结果如图 5A 所示:MFN1 表达下调后,MMP7 分子的 mRNA 和蛋白表达水平显著升高,而 MMP1、MMP2 与 MMP9 的 mRNA 与蛋白水平均未发生显著改变。上述结果提

示 MFN1 表达下调可能通过上调 MMP7 的表达而促进肝癌细胞的迁移与侵袭。

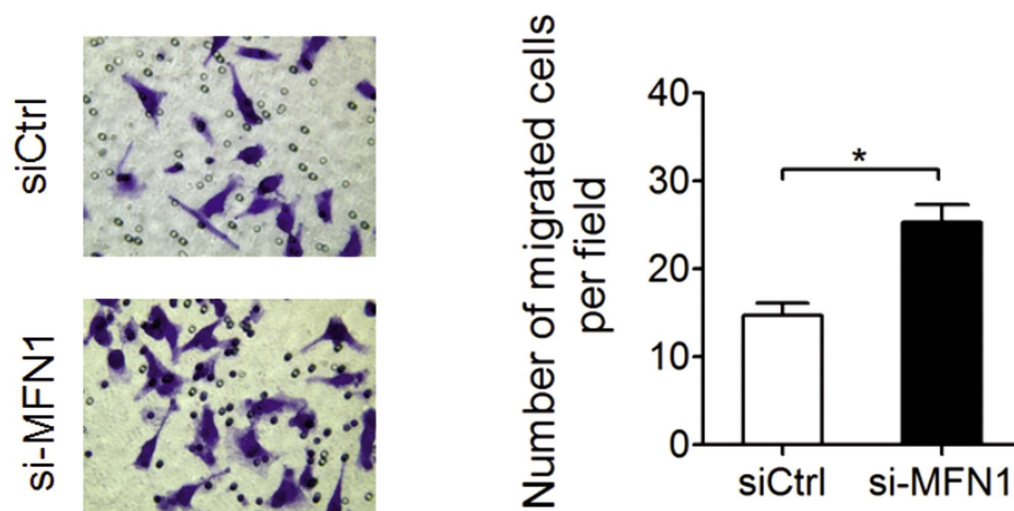


图 3 下调 MFN1 表达对肝癌细胞迁移能力的影响

Fig.3 Effects of MFN1 knocking down on the migration ability of HCC cells.

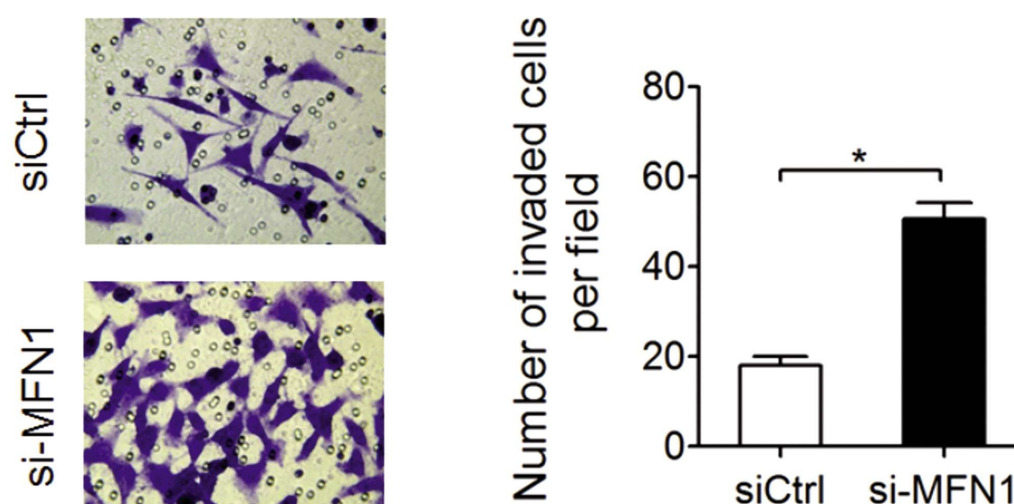


图 4 下调 MFN1 表达对肝癌细胞侵袭能力的影响

Fig.4 Effects of MFN1 knocking down on the invasion ability of HCC cells.

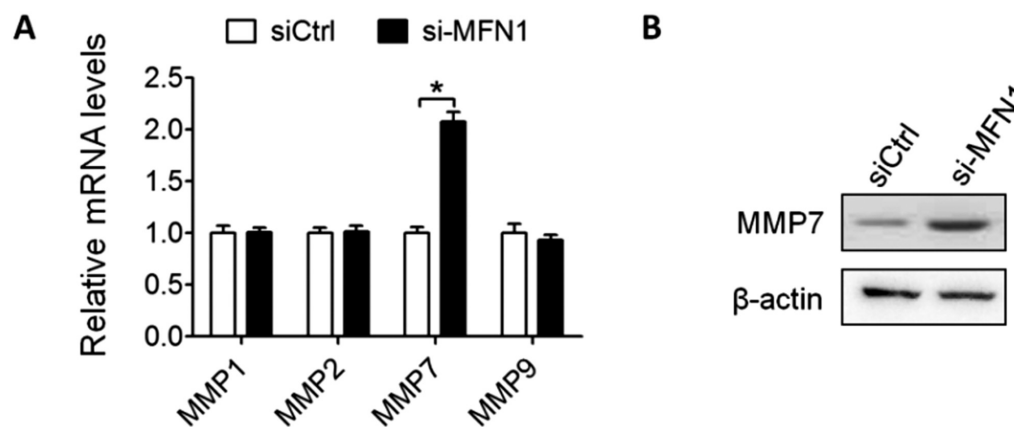


图 5 下调 MFN1 对肝癌细胞中 MMPs 分子表达的影响

A:qRT-PCR 分析;B:Western blot 分析。

Fig.5 The effect of MFN1 knockdown on the expression levels of matrix metalloproteinase (MMPs)

A. qRT-PCR analysis; B. Western Blot analysis

3 讨论

线粒体与细胞的“生老病死”息息相关^[1,4,20],其异常几乎与所有慢性疾病的发生或进展相关^[21-23]。线粒体通过动态的分裂与融合对自身的形态与功能进行精密调控^[24,25]其异常被证实与肿瘤的发生发展关系密切^[13,26,27]。如线粒体分裂可通过调控细胞周期而促进肺癌细胞的增殖^[28],ERK 信号可通过激活线粒体分裂蛋白 DRP1 而促进肾癌细胞的体内外生长^[29]。线粒体分裂异常对肝癌细胞生长具有促进作用。如 Huang 等研究发现线粒体分裂可通过激活 ROS 信号而促进体内外肝癌细胞的增殖与生长^[30]。Zhan 等研究也证实线粒体分裂蛋白 DRP1 介导的线粒体分裂可通过 p53 与 NFkB 信号促进肝癌细胞的增殖。除调控肿瘤细胞的生长外,线粒体分裂也被证实参与肿瘤的转移调控^[31]。Zhao 等在乳腺癌的研究发现线粒体分裂可促进乳腺癌的侵袭与迁移能力^[32]。Che 等在肺癌的研究中证实表皮生长因子受体 EGFR 可通过调控线粒体分裂而促进非小细胞肺癌的转移^[33]。此外,Sun 等在肝癌中的研究发现线粒体分裂调控蛋白 DRP1 可通过调控钙信号而促进肿瘤细胞的迁移^[34]。由此可见,线粒体分裂异常与肿瘤的生长及转移均密切相关。然而,线粒体融合蛋白及其介导的线粒体融合在肿瘤转移中的作用目前却尚不十分清楚。我们的研究首次证实线粒体融合关键蛋白 MFN1 在肝癌转移灶组织中表达显著下调,并促进了肝癌细胞的迁移与侵袭。因此,肿瘤细胞的线粒体不单存分裂的异常,也存在融合的异常,分裂与融合异常共同促进了肿瘤的发生与进展。

MMP 可通过降解细胞外基质破坏肿瘤转移的组织学屏障,进而发挥促进肿瘤侵袭转移的作用^[47]。但目前,线粒体分裂与融合异常在肿瘤细胞 MMPs 分泌中的调控作用却尚不清楚。以往多个研究已证实 MMP7 表达上调可促进肝癌转移^[35,36]。我们的研究首次发现 MFN1 表达下调可显著上调 MMP7 的表达,提示 MMP7 可能介导了 MFN1 对肝癌转移的调控,但 MNF1 调控肝癌细胞侵袭转移是否是通过上调 MMP7,仍需进一步的实验证据,这将是我们的下一步研究的主要方向之一。然而,以往在乳腺癌中的研究显示 DRP1 介导的线粒体分裂通过促进板状伪足的形成而调控肿瘤细胞转移^[32]。在肝癌中研究的则显示 DRP1 介导的线粒体分裂通过调控钙离子平衡而促进肿瘤细胞转移^[34]。因此,线粒体融合可能存在与分裂不同的促肿瘤转移机制。

综上,本研究首次证实线粒体融合蛋白 MFN1 在肝癌转移过程中的表达显著降低,可能通过上调 MMP7 的表达而促进肝癌转移,MFN1 可能是潜在的肝癌分子治疗靶标。

参考文献(References)

- [1] Koch RE, Josefson CC, Hill GE. Mitochondrial function, ornamentation, and immunocompetence [J]. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society, 2017, 92(3): 1459-1474
- [2] Lee MS. Role of mitochondrial function in cell death and body metabolism[J]. Frontiers in bioscience, 2016, 21(1): 1233-1244
- [3] Picard M, Taivassalo T, Gouspillou G, et al. Mitochondria: isolation, structure and function [J]. The Journal of physiology, 2011, 589(18): 4413-4421
- [4] Friedman JR, Nunnari J. Mitochondrial form and function [J]. Nature,

- 2014, 505(7483): 335-343
- [5] Westermann B. Mitochondrial fusion and fission in cell life and death [J]. Nature reviews Molecular cell biology, 2010, 11(12): 872-884
- [6] Devoto VMP, Falzone TL. Mitochondrial dynamics in Parkinson's disease: a role for alpha-synuclein [J]. Dis Model Mech, 2017, 10(9): 1075-1087
- [7] Mishra P. Interfaces between mitochondrial dynamics and disease[J]. Cell Calcium, 2016, 60(3): 190-198
- [8] Gao J, Wang L, Liu J, et al. Abnormalities of Mitochondrial Dynamics in Neurodegenerative Diseases[J]. Antioxidants, 2017, 6(2): 25-33
- [9] Marin-Garcia J, Akhmedov AT. Mitochondrial dynamics and cell death in heart failure[J]. Heart failure reviews, 2016, 21(2): 123-136
- [10] Mishra P. Interfaces between mitochondrial dynamics and disease[J]. Cell Calcium, 2016, 60(3): 190-198
- [11] Rovira-Llopis S, Banuls C, Diaz-Morales N, et al. Mitochondrial dynamics in type 2 diabetes: Pathophysiological implications[J]. Redox Biol, 2017, 11(1): 637-645
- [12] Srinivasan S, Guha M, Kashina A, et al. Mitochondrial dysfunction and mitochondrial dynamics-The cancer connection[J]. Biochimica et biophysica acta, 2017, 1858(8): 602-614
- [13] Trotta AP, Chipuk JE. Mitochondrial dynamics as regulators of cancer biology [J]. Cellular and molecular life sciences, 2017, 74(11): 1999-2017
- [14] Rehman J, Zhang HJ, Toth PT, et al. Inhibition of mitochondrial fission prevents cell cycle progression in lung cancer[J]. FASEB journal, 2012, 26(5): 2175-2186
- [15] Kim YY, Yun SH, Yun J. Downregulation of Drp1, a fission regulator, is associated with human lung and colon cancers [J]. Acta biochimica et biophysica Sinica, 2018, 50(2): 209-215
- [16] Jia Y, Zhou L, Tian C, et al. Dynamin-related protein 1 is involved in micheliolide-induced breast cancer cell death [J]. Onco Targets Ther, 2015, 8(1): 3371-3381
- [17] Jablonska-Trypuc A, Matejczyk M, Rosochacki S. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs [J]. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 2016, 31(1): 177-183
- [18] Zhong Y, Lu YT, Sun Y, et al. Recent opportunities in matrix metalloproteinase inhibitor drug design for cancer [J]. Expert Opin Drug Dis, 2018, 13(1): 75-87
- [19] Yadav L, Puri N, Rastogi V, et al. Matrix metalloproteinases and cancer - roles in threat and therapy [J]. Asian Pacific journal of cancer prevention, 2014, 15(3): 1085-1091
- [20] Jafri MS, Kumar R. Modeling mitochondrial function and its role in disease [J]. Progress in molecular biology and translational science, 2014, 123(1): 103-125
- [21] Craven L, Alston CL, Taylor RW, et al. Recent Advances in Mitochondrial Disease[J]. Annual review of genomics and human genetics, 2017, 18(1): 257-275
- [22] Alston CL, Rocha MC, Lax NZ, et al. The genetics and pathology of mitochondrial disease [J]. The Journal of pathology, 2017, 241(2): 236-250
- [23] Rolfo A, Pedra LL, Todros T, et al. Dynamic Role of Noxa in Regulating Mitochondrial Cell Death and Autophagy in the Human Placenta [J]. Reprod Sci, 2012, 19(S3): 85a-85a

- during development[J]. BMC Neurosci, 2016, 17(1): 36
- [13] Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function[J]. Physiol Rev, 2005, 85(3): 845-881
- [14] Dornonville de la Cour M. Ion transport in the retinal pigment epithelium. A study with double barrelled ion-selective microelectrodes[J]. Acta Ophthalmol Suppl, 1993, (209): 1-32
- [15] Miyamoto Y, Del Monte MA. Na(+)-dependent glutamate transporter in human retinal pigment epithelial cells [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1994, 35(10): 3589-3598
- [16] Seko Y, Tanaka Y, Tokoro T. Scleral cell growth is influenced by retinal pigment epithelium in vitro [J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 1994, 232(9): 545-552
- [17] 王槐睿. 探究电磁辐射对环境的污染及防护[J]. 环境与发展, 2018, 07: 30+32
- [18] Redlarski G, Lewczuk B, Zak A, et al. The influence of electromagnetic pollution on living organism: historical trends and forecasting changes[J]. Biomed Res Int, 2015: 234098
- [19] Pandey N, Giri S. Melatonin attenuates radiofrequency radiation (900 MHz)-induced oxidative stress, DNA damage and cell cycle arrest in germ cells of male Swiss albino mice [J]. Toxicology and industrial health, 2018, 34(5): 315-327
- [20] Nikzad S, Mahmoudi G, Amini P, et al. Effects of radiofrequency radiation in the presence of gold nanoparticles for the treatment of renal cell carcinoma [J]. Journal of renal injury prevention, 2017, 6(2): 103-108
- [21] Chen C, Ma Q, Liu C, et al. Exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation impairs neurite outgrowth of embryonic neural stem cells[J]. Science reports, 2014, 4: 5103
- [22] Rocha Junior AM, Vieira BJ, de Andrade LC et al. Low-level laser therapy increases transforming growth factor-beta2 expression and induces apoptosis of epithelial cells during the tissue repair process[J]. Photomedicine and laser surgery, 2009, 27(2): 303-307
- [23] 刘亚军, 闫峰, 叶巍, 等. 转化生长因子- $\beta 2$ (TGF- $\beta 2$)诱导人视网膜色素上皮层细胞上皮-间质转分化中 miRNA-29b 的表达及意义[J]. 眼科新进展, 2016, 36(11): 1001-1005
- [24] 李冬平, 原莉莉, 张东昌. 转化生长因子 $\beta 2$ 对人视网膜色素上皮细胞间质转化的影响[J]. 山西医药杂志, 2017, 46(17): 2035-2037
- [25] 王玲, 杨丽萍, 刘梦迎, 等. 大鼠球结膜滤过泡模型中转化生长因子 $\beta 1$ 及转化生长因子 $\beta 2$ 动态表达的实验研究[J]. 中国耳鼻咽喉科杂志, 2016, 16(5): 313-318
- [26] Jia Y, Hu DN. Human aqueous humor levels of TGF- $\beta 2$: relationship with axial length[J]. Biomed Res Int, 2014: 258591
- [27] Mao JF, Liu SZ. Mechanism of the DL- α -aminoadipic acid inhibitory effect on form-deprived myopia in guinea pig[J]. Int J Ophthalmol, 2013, 6(1): 19-22

(上接第 1628 页)

- [24] Haroon S, Vermulst M. Linking mitochondrial dynamics to mitochondrial protein quality control[J]. Current opinion in genetics & development, 2016, 38(1): 68-74
- [25] Ni HM, Williams JA, Ding WX. Mitochondrial dynamics and mitochondrial quality control[J]. Redox Biol, 2015, 4(1): 6-13
- [26] Trotta AP, Chipuk JE. Mitochondrial dynamics as regulators of cancer biology [J]. Cellular and molecular life sciences, 2017, 74 (11): 1999-2017
- [27] Inoue-Yamauchi A, Oda H. Depletion of mitochondrial fission factor DRP1 causes increased apoptosis in human colon cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 421(1):81-85
- [28] Rehman J, Zhang HJ, Toth PT, et al. Inhibition of mitochondrial fission prevents cell cycle progression in lung cancer [J]. Faseb Journal, 2012, 26(5): 2175-2186
- [29] Kashatus JA, Nascimento A, Myers LJ, et al. Erk2 Phosphorylation of Drp1 Promotes Mitochondrial Fission and MAPK-Driven Tumor Growth[J]. Mol Cell, 2015, 57(3): 537-551
- [30] Huang QC, Zhan L, Cao HY, et al. Increased mitochondrial fission promotes autophagy and hepatocellular carcinoma cell survival through the ROS-modulated coordinated regulation of the NFKB and TP53 pathways[J]. Autophagy, 2016, 12(6): 999-1014
- [31] Zhan L, Cao HY, Wang G, et al. Drp1-mediated mitochondrial fission promotes cell proliferation through crosstalk of p53 and NF-kappa B pathways in hepatocellular carcinoma [J]. Oncotarget, 2016, 7(40): 65001-65011
- [32] Zhao J, Zhang J, Yu M, et al. Mitochondrial dynamics regulates migration and invasion of breast cancer cells [J]. Oncogene, 2013, 32 (40): 4814-4824
- [33] Che TF, Lin CW, Wu YY, et al. Mitochondrial translocation of EGFR regulates mitochondria dynamics and promotes metastasis in NSCLC [J]. Oncotarget, 2015, 6(35): 37349-37366
- [34] Sun X, Cao H, Zhan L, et al. Mitochondrial fission promotes cell migration by Ca(2+)/CaMKII/ERK/FAK pathway in hepatocellular carcinoma[J]. Liver international, 2018, 38(7): 1263-1272
- [35] Kang KF, Zhang X, Chen XW. Expressions of MDM2 and MMP-7 in normal liver, cirrhosis, hepatocellular carcinoma tissues [J]. Chinese journal of hepatology, 2010, 18(1): 67-68
- [36] Chen L, Li M, Li Q, et al. DKK1 promotes hepatocellular carcinoma cell migration and invasion through beta-catenin/MMP7 signaling pathway[J]. Molecular cancer, 2013, 12: 157