

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.24.002

miR-223 在结肠癌组织中的表达及促进结肠癌细胞迁移侵袭的机制研究*

岳超 朱海涛 彭锐 魏尉 周斌 李刚 陈环球[△]

(江苏省肿瘤医院 / 江苏省肿瘤防治研究所 / 南京医科大学附属肿瘤医院普外科 江苏 南京 210000)

摘要 目的:探讨微小 RNA-223 (miR-223) 在结肠癌组织中的表达及对结肠癌 HT-29 细胞侵袭、迁移能力的影响及机制。**方法:**检测 miR-223 在结肠癌组织与癌旁组织中的表达。通过脂质体转染法将 miR-223 模拟物 (miR-223 mimics, miR-223 mimics 组) 及 microRNA 无关序列 (miR-223 NC, NC 组) 转染入结肠癌 HT-29 细胞。采用 Real-time PCR 检测转染后细胞中 miR-223 和 TWIST 的表达, Western blot 检测 TWIST 的蛋白表达, Transwell 检测细胞的迁移与侵袭能力。双荧光素酶报告基因检测 miR-223 对 TWIST 基因启动子活性的影响。采用 Transwell 迁移与侵袭实验检测 miR-223 mimic 及 Twist siRNA 共转染后人结肠癌细胞系 HT-29 迁移与侵袭能力的变化。**结果:**与癌旁结肠组织比较, miR-223 在结肠癌组织中呈现明显高表达 ($P<0.05$); 与空白对照组和 miR-223 NC 组比较, 转染 miR-223 mimics 后的 HT-29 细胞中的 miR-223 表达显著增加 ($P<0.05$)。与阴性对照组和空载转染组相比较, miR-223 mimics 转染组穿透的细胞数目明显增加 ($P<0.05$), 且 miR-223 mimics 转染组的细胞侵袭能力显著增强 ($P<0.05$)。与 miR-223 NC 组和空白对照组比较, 转染 miR-223 mimics 的 HT-29 细胞的 TWIST 基因 mRNA 和蛋白表达均显著增加 ($P<0.05$)。双荧光素酶检验结果显示 TWIST 为 miR-223 的下游靶基因。共转染 TWIST siRNA 和 miR-223 mimics 的结肠癌 HT-29 细胞的迁移与侵袭能力较单独转染 miR-223 mimics 的 HT-29 细胞显著减弱 ($P<0.05$)。**结论:**miR-223 可能通过上调下游靶基因 TWIST 水平促进结肠癌 HT-29 细胞的迁移与侵袭。

关键词: 结肠癌; 微小 RNA-223; TWIST; 细胞迁移; 肿瘤侵袭

中图分类号: R-33; R735.35 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2019)24-4607-05

Study on the Expression of miR-223 in Colon Cancer and the Mechanism of Promoting the Migration and Invasion of Colon Cancer Cells*

YUE Chao, ZHU Hai-tao, PENG Rui, WEI Wei, ZHOU Bin, LI Gang, CHEN Huan-qiu[△]

(Department of General Surgery, Jiangsu Cancer Hospital/Jiangsu Institute of Cancer Research/Cancer Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of microRNA-223 (miR-223) in colon cancer and its influence and mechanism on the invasion and migration of HT-29 cells. **Methods:** The expression of miR-223 in colon cancer and adjacent tissues was detected. miR-223 mimics (miR-223 mimics, miR-223 mimics group) and microRNA unrelated sequences (miR-223 NC, NC group) were transfected into colon cancer HT-29 cells by liposome transfection. Detection of miR-223 and TWIST expression in transfected cells by Real-time PCR, Western blot was used to detect the protein expression of TWIST, and Transwell was used to detect the cell migration and invasion. Double luciferase reporter gene was used to detect the effect of miR-223 on the promoter activity of TWIST gene. Transwell migration and invasion assay was used to detect the migration and invasion of human colon cancer cell line HT-29 transfected with miR-223 mimics and TWIST siRNA. **Results:** The expression of miR-223 was significantly higher than that of the adjacent colon ($P<0.05$). Compared with the blank control group and miR-223 NC group, the expression of miR-223 in HT-29 cells transfected with miR-223 mimics increased significantly ($P<0.05$). Compared with the negative control group and the empty transfection group, the number of cells penetrated by miR-223 mimics transfection group increased significantly ($P<0.05$), and the cell invasion ability of miR-223 mimics transfection group increased significantly ($P<0.05$). Compared with miR-223 NC group and blank control group, the expression of TWIST gene mRNA and protein in HT-29 cells transfected with miR-223 mimics increased significantly ($P<0.05$). Double luciferase analysis showed that TWIST was the downstream target gene of miR-223. The migration and invasion ability of HT-29 cells co transfected with TWIST siRNA and miR-223 mimics was significantly weaker than that of HT-29 cells alone transfected with miR-223 mimics ($P<0.05$). **Conclusions:** miR-223 may promote the migration and invasion of HT-29 cells by up regulating the level of downstream target gene TWIST.

Key words: Colon cancer; miR-223; TWIST; Cell migration; Neoplasm invasion

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.35 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)24-4607-05

* 基金项目: 江苏省六大高峰人才项目 (WSW-050); 江苏省肿瘤医院青蓝工程人才项目 (QL 201816)

作者简介: 岳超 (1984-), 男, 博士, 主治医师, 研究方向: 普通外科, E-mail: 13645160518@139.com

[△] 通讯作者: 陈环球 (1961-), 男, 本科, 主任医师, 研究方向: 普通外科, E-mail: drhuanqiu@sina.cn

(收稿日期: 2019-09-05 接受日期: 2019-09-28)

前言

结肠癌是危害人类健康的常见消化道恶性肿瘤,为世界上第3大恶性肿瘤,病死率居第4位^[1,2],近年来其发病率及死亡率呈逐年上升趋势^[3]。然而,其迁移与侵袭发生的分子机制仍然未明。微小RNA (microRNA)是一类长度约为18~25个核苷酸的小分子内源性非编码RNA,通过结合mRNA 3'-UTR调节mRNA翻译或降解来影响多种基因表达^[4]。研究证实,微小RNA-223(miR-223)参与调控多种肿瘤细胞的生理过程,如细胞增殖、分化、侵袭及凋亡等^[4-6]。研究显示,结肠癌组织中miR-223存在异常高表达,提示其可能在大肠癌的发生发展中发挥一定作用,但其具体作用机制不清^[9]。本研究以结肠癌细胞HT-29为实验对象,通过体外实验探讨miR-223对其迁移和侵袭能力的影响,并阐明可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人结肠癌细胞系HT-29购自北京中州新桥生物公司;转染试剂脂质体lipofectamine2000购自美国Invitrogen公司;TRIzol试剂和逆转录试剂盒均购自日本宝生物公司;miR-140 mimics及其无关序列(NC)、microRNA专用快速提取试剂盒购自北京百泰克生物公司;基质胶(Matrigel)购自美国BD Bioscience公司;Transwell小室(24孔,8 μ m)购自美国Corning公司。DMEM培养基购自天津航洋生物公司;去内毒素胎牛血清购自天津TBD公司;多克隆兔抗人TWIST购自美国Abclonal公司;单克隆兔抗人抗体 β -actin购自美国Affinity公司;蛋白marker购自absin公司;Western blot超敏型曝光显影液购自天津言行生物公司;RIPA蛋白裂解液购自天津TBD生物公司;BCA定量试剂盒购自美国PIERCE公司;阴性对照siRNA(si-NC)序列及TWIST基因的特异性siRNA序列均由上海吉玛公司设计并合成。TWIST siRNA引物序列:上游5'-CGGGUACAUAUGAUGCCATT-3',下游和5'-UGGCAU-CAUUAUGUACCCGTT-3';si-NC引物序列:上游5'-GUGAA-GAGCAGGCUAAAUATT-3',下游和5'-UAUUUAGCCUGCU-CUUCACCTT-3',序列长度275bp。

1.2 方法

1.2.1 临床标本收集与细胞培养 20例结肠癌组织标本及20例癌旁组织标本均来自于我院肿瘤组织标本库,并经过病理科严格鉴定。新鲜标本经液氮冻存用于组织RNA的提取。人结肠癌细胞系HT-29培养于DMEM培养基中(10%胎牛血清, 10×10^4 U/L青霉素,100 mg/L链霉素),放置于37 $^{\circ}$ C,5% CO₂恒温培养箱中。

1.2.2 细胞转染 将处于对数期生长的HT-29细胞消化后接种6孔细胞培养板中,细胞数为 5×10^5 /孔。待细胞生长密度达到40%~50%。根据脂质体Lipofectamine® 2000说明书分别将microRNA无关序列(miR-223 NC,NC组)及microRNA-223模拟物miR-223 mimic(miR-223 mimics组)按终浓度为50 nmol/L转染进入结肠癌HT-29细胞。细胞转染后24 h,使用RT-PCR法检测转染效率及miR-223表达。实验重复3次后,进行统计分析。

1.2.3 逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR) 本研究所用引物由上海擎科生物公司设计与合成,序列如下:Twist:上游5'-GTC-GAAGAATCGCATCATCA-3',下游5'-GCATCCTGCCCCAT-CATACTC-3',产物长度为156bp; β -actin:上游5'-TCTCT-GCTCCTCCTGTT-3',下游5'-ACTCCGACCTTCACCTT-3',产物长度为285bp。商业化miR-223检测试剂盒和U6内参均购于广州锐博生物公司,靶向序列如下:miR-223:上游5'-GCCGTACTCTGTAGATCCGAA-3',下游5'-CAGTGCAGG-GTCCGAGGTAT-3',产物长度为125bp。U6引物:上游5'-CTCGCTTCGGCAGCACACAGTGCA-3',下游5'-CAUAA-UGAUGCCATGGGTCCGAGGTAT-3',产物长度为312bp。以U6作参照,进行上机扩增,统计分析实验数据。

1.2.4 Western blot实验 将处理完毕的细胞取出,弃上清,PBS清洗2次后加入RIPA裂解液置于冰上充分裂解15 min。13000 g $\times$ 15 min离心后,吸取上层蛋白上清液,使用BCA法进行蛋白浓度测定。取60 μ g总蛋白上样,电泳、转膜后取出PVDF膜,脱脂牛奶室温封闭1 h,孵育1抗避光过夜。次日TBST清洗3次后室温下孵育二抗1 h。TBST洗涤3次后曝光、显影。

1.2.5 细胞小室迁移与侵袭实验 以1:3比例提前将基质胶铺在小室上层(40 μ L/孔),置于恒温培养箱中过夜。次日使用无血清培养液重悬细胞,将计数好的细胞接种于上室(200 μ L),下室则加入600 μ L含12%血清的培养液。至于培养箱中处理指定时间后取出小室,PBS清洗2次,使用湿润棉棒轻柔擦去上室未穿透的残余细胞。使用甲醇固定15 min后置于结晶紫染液中染色15 min。取出小室,使用PBS清洗3次后置于倒置显微镜下观察、拍照,随机取5个视野进行拍照,计数。

1.2.6 双荧光素酶实验检测miR-223与TWIST的关系 为了确定TWIST mRNA的3'-UTR是否为miR-223的直接靶蛋白,TWIST mRNA的野生型全长3'-UTR以及突变型3'-UTR扩增并连接到psi-CHECK-2载体(Promega,美国),分别命名为野生型的WT-TWIST psiCHECKTM-2及定点突变后的MT-TWIST psiCHECKTM-2载体。HT-29细胞共转染200 nmol/L miR-223 mimics和100 ng质粒(WT-TWIST psiCHECKTM-2或者MT-TWIST psiCHECKTM-2),24孔板培养48 h。收集细胞裂解,海肾(renilla)和萤火虫(firefly)荧光素酶荧光强度使用Dual-Luciferase报告分析系统(美国Promega公司)进行分析。

1.3 统计学分析

本研究均采用Graphpad Prism 8.01统计软件进行数据分析,数据使用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用Student t检验或One-Way ANOVA分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠癌组织中miR-223的表达升高

与正常癌旁结肠组织(0.99 ± 0.38)相比,miR-223在结肠癌组织中表达(7.80 ± 0.45)显著上调($P < 0.05$)。提示miR-223的表达上调可能参与结肠癌的发病。

2.2 结肠癌细胞系HT-29中miR-223的表达

HT-29细胞转染miR-223 mimics及miR-223 NC 24 h后,倒置荧光显微镜下观察发现miR-223 mimics转染组细胞中出

现大量 GFP 绿色荧光蛋白,提示转染效率高于 95%,图 1A。RT-PCR 检测结果进一步显示,与空白对照组和 miR-223 NC

组比较,转染 miR-223 mimics 后的 HT-29 细胞中的 miR-223 表达显著增加($P<0.05$),见图 1B。

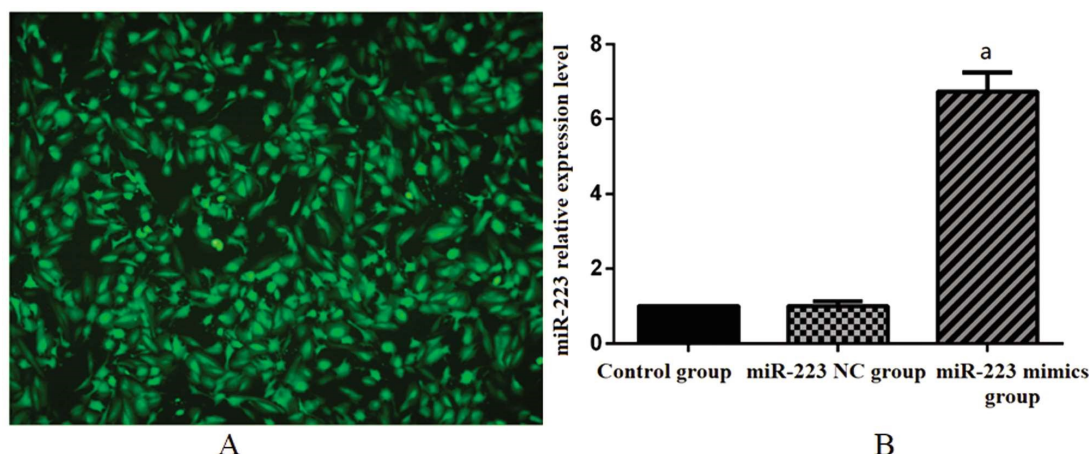


图 1 转染 miR-223 mimics 后 HT-29 细胞中 miR-223 的表达

Fig.1 Expression of miR-223 in HT-29 cells transfected with miR-223 mimics

Note: A: expression diagram of green fluorescent protein; B: miR-223 relative expression level; Compared with the control group and miR-223 NC group, $^aP<0.05$.

2.3 miR-223 对 HT-29 细胞迁移和侵袭能力的影响

与阴性对照组和空载转染组相比较,miR-223 mimics 转染

组穿透的细胞数目明显增加($P<0.05$),见图 2;miR-223 mimics 转染组的细胞侵袭能力显著增强($P<0.05$),见图 3。

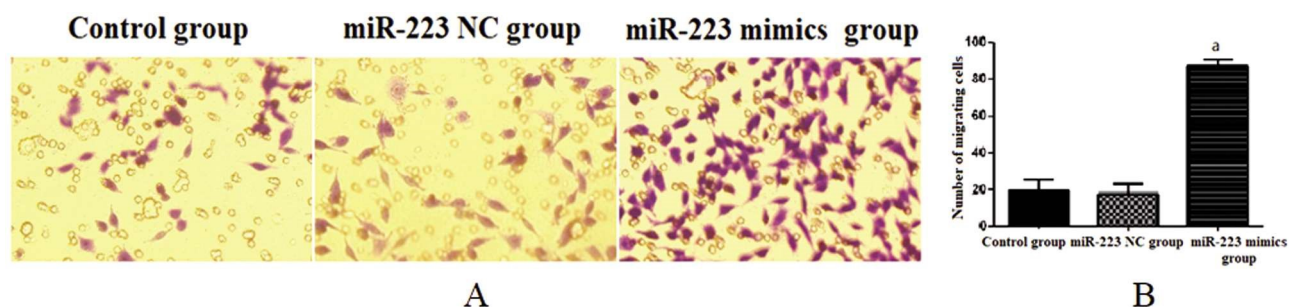


图 2 转染 miR-223 mimics 对 HT-29 细胞迁移能力的影响

Fig.2 Effect of miR-223 mimics on the migration of HT-29 cells

Note: A: Crystal violet chromatogram of cell migration ability ($\times 200$); B: Comparison of the number of migrating cells in each group; Compared with the control group and miR-223 NC group, $^aP<0.05$.

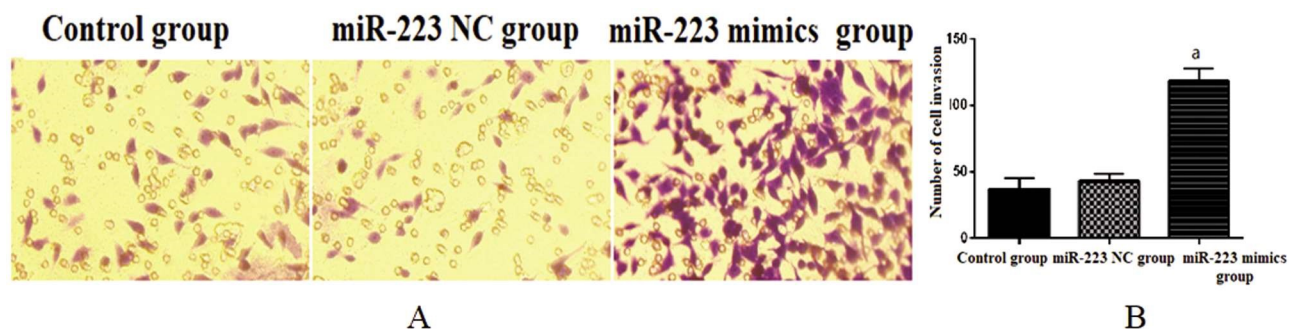


图 3 转染 miR-223 mimics 对 HT-29 细胞侵袭能力的影响

Fig.3 Effect of miR-223 mimics on the invasiveness of HT-29 cells

Note: A: Crystal violet chromatogram of cell invasiveness ($\times 200$); B: Comparison of the number of cell invasiveness in each group; Compared with the control group and miR-223 NC group, $^aP<0.05$.

2.4 过表达 miR-223 促进 TWIST 基因表达

转染 miR-223 mimic 24、48 h 后,与 miR-223 NC 组和空白对照组比较,转染 miR-223 mimics 的 HT-29 细胞的 TWIST 基

因 mRNA 和蛋白表达均显著增加($P<0.05$),见图 4。

2.5 miR-223 与 TWIST 相互作用关系的双荧光素酶实验检测

双荧光素酶检验结果显示,miR-223 能明显促进野生型

WT-TWIST psiCHECKTM-2 载体的荧光强度($P<0.05$),而无法抑制 3'UTR 定点突变后 MT-TWIST psiCHECKTM-2 载体的

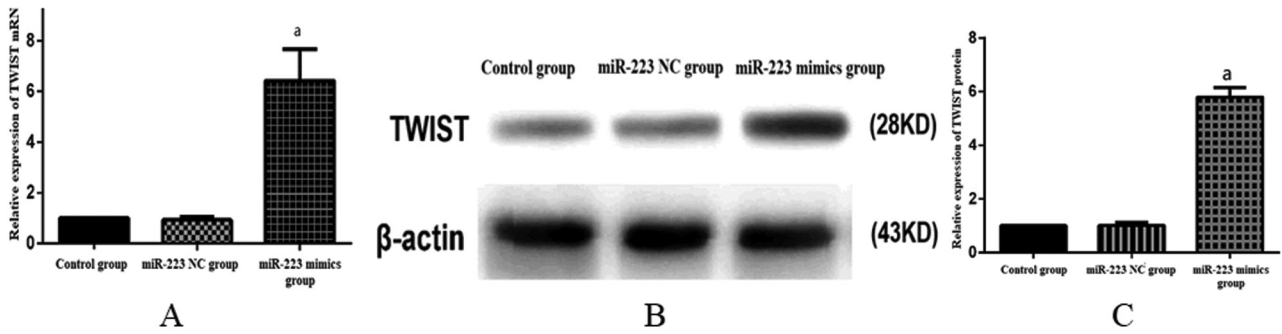


图 4 转染 miR-223 mimics 对 HT-29 细胞 TWIST mRNA 和蛋白表达的影响

Fig.4 Effect of miR-223 mimics on TWIST mRNA and protein expression in HT-29 cells

Note: A: Relative expression of TWIST mRNA; B: Western blot results; C: Relative expression of TWIST protein; Compared with the control group and miR-223 NC group, $^aP<0.05$.

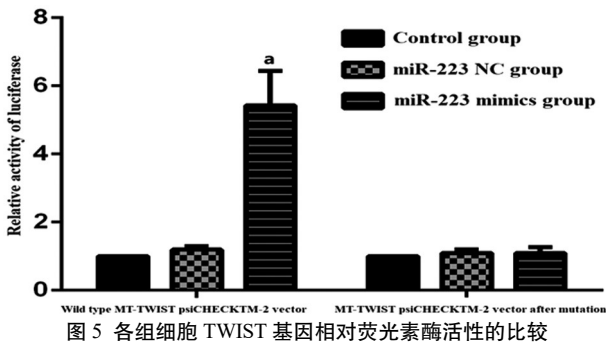


Fig.5 Comparison of the relative luciferase activity of TWIST gene in each group of cells

Note: Compared with the control group and miR-223 NC group, $^aP<0.05$.

2.6 沉默 TWIST 抑制 miR-223 诱导的 HT-29 细胞迁移与侵袭能力

共同转染 miR-223 mimics 和 TWIST siRNA 使用 Transwell 迁移与侵袭实验检测发现, TWIST siRNA 和 miR-223 mimics 共转染组细胞的迁移与侵袭能力明显低于 miR-223 mimics 组和 siRNA-NC 组中转染的 HT-29 细胞($P<0.05$), 见图 6。

3 讨论

目前随着人们生活节奏加快、饮食结构的改变以及人口的老龄化的出现, 结肠癌在我国的发病率呈现逐年攀升的趋势, 对人们的健康造成严重威胁^[7,8]。由于结肠癌起病隐匿, 导致早

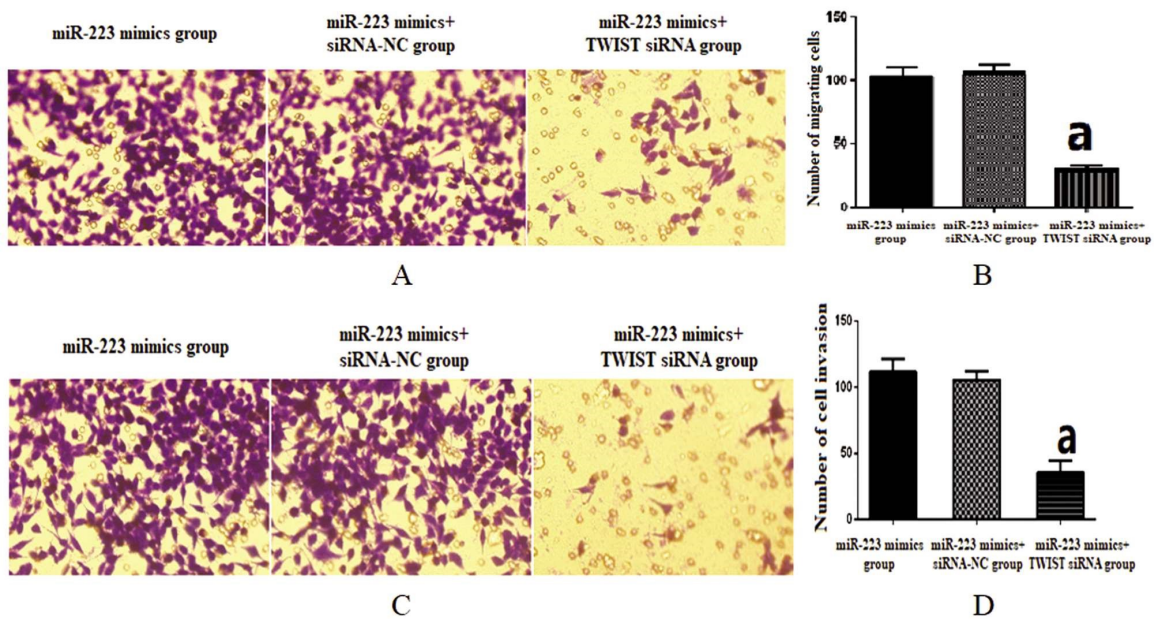


图 6 沉默 TWIST 抑制 miR-223 诱导的 HT-29 细胞迁移与侵袭能力

Fig.6 Silencing TWIST inhibits migration and invasion of HT-29 cells induced by miR-223

Note: A: Crystal violet chromatogram of cell migration ability ($\times 200$); B: Comparison of the number of migrating cells in each group; C: Crystal violet chromatogram of cell invasiveness ($\times 200$); D: Comparison of the number of cell invasiveness in each group; Compared with the miR-223 mimics group and miR-223 mimics+siRNA-NC group, $^aP<0.05$.

期诊断率低,50%的患者就诊时多已发生淋巴及远处转移,失去了根治性手术的机会,而局部肿瘤未转移的患者手术后也有1/3复发。随着医学科学技术的不断发展进步,针对肿瘤致病基因的靶向治疗逐渐引起学者的重视,也是肿瘤研究领域的热点。

MicroRNA (miRNA) 是一类内源性生成的、长度大概为20~24个核苷酸的小RNA,是发夹结构的约70~90个碱基大小的单链RNA前体经过Dicer酶加工后生成^[9,10]。近年来多项研究表明miRNA在多种人类恶性肿瘤中表达异常,导致癌基因的激活和抑癌基因的缺失,从而调控癌细胞的增殖、分化、凋亡等生物学过程,同时与恶性肿瘤远处侵袭、转移浸润相关的miRNA也日益引起学者的关注^[11,12]。越来越多学者发现miR-223可能在结肠癌、乳腺癌等多种肿瘤性疾病中扮演重要角色^[3]。在胃癌中miR-223通过靶向调控Sp1基因表达,从而抑制胃癌细胞上皮间质转化的发生^[13]。Li X等^[14]研究发现,miR-223过表达与胃癌的预后成负相关,且miR-223能够通过下调肿瘤抑制因子EPB41L3表达从而促进胃癌细胞侵袭转移。此外,miR-223能够靶向调控FOXO-1表达从而促进乳腺癌细胞的增殖与存活^[15]。本研究通过RT-PCR比较结肠癌组织和癌旁正常结肠组织中miR-223的表达情况,结果发现miR-223在结肠癌中的表达明显高于癌旁正常结肠组织。Traswell迁移与侵袭实验结果进一步发现,miR-223 mimics组细胞的miR-223表达水平较阴性对照组和空载转染组明显升高,同时细胞迁移与侵袭能力显著增强,以上结果提示miR-223的高表达可能通过促进细胞迁移与侵袭能力来参与结肠癌的发生和发展。

恶性肿瘤侵袭转移的生物学过程涉及多种癌基因的表达异常,TWIST基因在其中的作用日益引起学者的关注^[16,17]。TWIST基因最早是在果蝇中被发现鉴定的,随后不断有研究证实在多种生物及人体中也存在该基因的类似结构;TWIST是一种编码位于常染色体上的碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)转录因子,其核苷酸和氨基酸序列高度保守^[18-20]。Twist基因不仅参与了胚胎的发育和形成过程,也与多种恶性肿瘤的侵袭、转移联系紧密^[21]。有研究证实,TWIST基因在多种恶性肿瘤中异常高表达,如乳腺癌^[22,23]、胃癌^[24]、肝癌^[25,26]以及结肠癌^[27]等。此外,TWIST基因受多种microRNA的调控。在侵袭性子宫内膜癌细胞系中,miR-106b通过靶向抑制TWIST基因表达从而阻断上皮间质转化发生^[28]。miR-98通过靶向抑制TWIST基因表达,从而抑制非小细胞肺癌上皮间质转化,延缓肿瘤进展^[29]。然而也有文献报道TWIST也可调控多种miRNA的表达,从而影响疾病进程。在胰腺癌中,TWIST基因能够通过调控miR-497表达来上调VEGFA基因表达,促进胰腺癌病灶新生血管生成^[30]。然而在结肠癌中,miR-223是否与TWIST基因之间协同参与结肠癌的发生发展目前尚不清楚。本次研究结果显示与空白对照组和miR-NC组相比,转染miR-223的结肠癌HT-29细胞TWIST mRNA和蛋白表达均显著增高且迁移、侵袭能力显著增强。双荧光素酶报告基因实验进一步证实了TWIST基因是miR-223的下游靶基因,过表达miR-223能够显著上调TWIST基因的启动子区活性。同时,本次研究发现,共转染TWIST siRNA和miR-223 mimics的结肠癌HT-29细胞的迁移与侵袭能力较单独转染miR-223 mimics

的HT-29细胞显著减弱,表明TWIST基因在miR-223介导的结肠癌HT-29细胞迁移与侵袭中发挥重要作用。可能是由于miR-223可能通过激活TWIST基因调控下游靶基因转录激活,从而增强结肠癌HT-29细胞的迁移和远处侵袭能力。

综上所述,本实验初步证实了在结肠癌中miR-223异常激活能够促进TWIST基因的激活,进而体外促进结肠癌细胞的迁移和侵袭。然而miR-223调控TWIST基因激活的具体分子机制目前不清,有待后续的进一步深入研究。这也将为结肠癌的临床诊疗提供新的理论基础和潜在的治疗靶点。

参考文献(References)

- [1] 孙志德,程利民.结肠癌肝转移患者临床病理因素对预后的影响[J].河北医学,2019,25(7): 1151-1154
- [2] 屠海明.结肠癌相关因素和DNA甲基转移酶1基因多态性与结肠癌易感性的相关性分析[J].医学临床研究,2018,35(9): 1727-1730
- [3] 陈勃勃,李建厂.微小RNA-187调控肿瘤细胞的分子机制[J].国际医药卫生导报,2019,25(22): 3810-3812
- [4] Witwer KW, Halushka MK. Toward the promise of microRNAs - Enhancing reproducibility and rigor in microRNA research[J]. NA Biol, 2016, 13(11): 1103-1116
- [5] Gao Y, Lin L, Li T, et al. The role of miRNA-223 in cancer: Function, diagnosis and therapy[J]. Gene, 2017, 616: 1-7
- [6] Haneklaus M, Gerlic M, O'Neill LA, et al. MiR-223: infection, inflammation and cancer[J]. J Intern Med, 2013, 274(3): 215-226
- [7] 武雪亮,王立坤,黄先涛,等.结直肠癌流行病学特征回顾性研究[J].中国医药导报,2019,16(20): 60-63, 75
- [8] 赵成帅,王蕾,王梅.结肠癌与直肠癌生物学行为及临床治疗的差异[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2018,25(10): 979-986
- [9] Fadaka AO, Klein A, Pretorius A. In silico identification of microRNAs as candidate colorectal cancer biomarkers [J]. Tumour Biol, 2019, 41(11): 1010428319883721
- [10] Hasakova K, Reis R, Vician M, et al. Expression of miR-34a-5p is up-regulated in human colorectal cancer and correlates with survival and clock gene PER2 expression [J]. PLoS One, 2019, 14 (10): e0224396
- [11] Ma X, Liang AL, Liu YJ. Research progress on the relationship between lung cancer drug-resistance and microRNAs[J]. J Cancer, 2019, 10(27): 6865-6875
- [12] Su Z, Jiang G, Chen J, et al. MicroRNA-429 inhibits cancer cell proliferation and migration by targeting AKT1 in renal cell carcinoma[J]. Mol Clin Oncol, 2020, 12(1): 75-80
- [13] Hu J, Shan Z, Hu K, et al. MiRNA-223 inhibits epithelial-mesenchymal transition in gastric carcinoma cells via Sp1[J]. Int J Oncol, 2016, 49(1): 325-335
- [14] Li X, Zhang Y, Zhang H, et al. MiRNA-223 promotes gastric cancer invasion and metastasis by targeting tumor suppressor EPB41L3 [J]. Mol Cancer Res, 2011, 9(7): 824-833
- [15] Wei YT, Guo DW2, Hou XZ, et al. MiRNA-223 suppresses FOXO1 and functions as a potential tumor marker in breast cancer [J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2017, 63(5): 113-118
- [16] 韩英,黄佳,陈俊.shRNA Twist基因对肺腺癌NCI-H1299细胞增殖和侵袭影响的研究[J].中国医师杂志,2019,21(10): 1495-1498
- [17] 谢环,田洁,黄娅芬.shRNA Twist基因对人绒毛膜癌细胞JEG-3增殖、侵袭和凋亡的影响[J].昆明医科大学学报,2019,40(5): 18-23

- tients with frontal basilar trauma having bc "syntekost" applied in the surgical treatment. report 1. the state of the systemic cellular and humoral immunity factors of patients with frontal basilar trauma in the acute posttraumatic period prior to surgical treatment [J]. *Wiad Lek*, 2019, 72(9 cz 2): 1791-1794
- [20] Dudnyk V, Zborovska O, Vyzhga Y, et al. Instrumental assessment of myocardial function by doppler tissue imaging in children with congenital heart defects after surgical correction and its correlation with galectin-3 amount as biological marker of cardiac fibrosis [J]. *Wiad Lek*, 2019, 72(7): 1281-1287
- [21] Rajaei M, Tabari M, Soltani G, et al. Comparison between the Effects of Dexmedetomidine and Midazolam on Postoperative Cognitive Impairment after Coronary Artery Bypasses Graft Surgery: A Randomized Clinical Trial[J]. *J Tehran Heart Cent*, 2019, 14(2): 67-73
- [22] Beitz ER, Seabury R, Miller CD, et al. Clonidine for Dexmedetomidine Withdrawal in Pediatric Patients: A Single Center's Experience [J]. *J Pediatr Pharmacol Ther*, 2019, 24(6): 542-543
- [23] Okuda T, Fujita M, Kato A. Significance of Elevated HMGB1 Expression in Pituitary Apoplexy [J]. *Anticancer Res*, 2019, 39 (8): 4491-4494
- [24] Shi Y, Gong W, Lu L, et al. Upregulation of miR-129-5p increases the sensitivity to Taxol through inhibiting HMGB1-mediated cell autophagy in breast cancer MCF-7 cells [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2019, 52(11): e8657
- [25] Zargar S, Rafie AN, Sosanabadi A, et al. Addition of dexmedetomidine and neostigmine to 1.5 % lidocaine and triamcinolone for epidural block to reduce the duration of analgesia in patients suffering from chronic low back pain[J]. *J Med Life*, 2019, 12(3): 260-265
- [26] Yin L, Chen X, Ji H, et al. Dexmedetomidine protects against sepsis associated encephalopathy through Hsp90/AKT signaling [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(5): 4731-4740
- [27] Carelli S, De Pascale G, Filetici N, et al. The place of dexmedetomidine light sedation in patients with acute brain injury [J]. *Crit Care*, 2019, 23(1): 340
- [28] 易思杨, 姜鲜. 不同剂量右美托咪定对老年妇科恶性肿瘤手术患者围术期疼痛、认知功能及肾功能的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(19): 4759-4762
- [29] 王根生, 卢锡华, 杨青存, 等. 右美托咪定辅助麻醉对结肠癌患者术中血流动力学及术后认知功能的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34(16): 1949-1952
- [30] 张莉, 王义, 王莉, 等. 丙泊酚与七氟烷配合右美托咪定对老年腹腔镜下肿瘤切除患者血流动力学的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(16): 3969-3972

(上接第 4611 页)

- [18] 邓毛, 王波, 张涛, 等. Twist1 基因对食管鳞癌迁移和侵袭的影响[J]. *中国医师进修杂志*, 2018, 41(3): 223-227
- [19] 王多伟, Bikash Rai, 王金森, 等. Twist 基因对结肠癌细胞系侵袭转移能力影响的体外研究 [J]. *天津医科大学学报*, 2017, 23(6): 510-515
- [20] 李春雨, 曲仪庆. Twist 基因在非小细胞肺癌中的研究进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2017, 37(2): 140-144
- [21] 赵荣荣, 龚太乾. Twist 基因与食管癌关系的研究进展[J]. *转化医学杂志*, 2018, 7(4): 250-253
- [22] Vesuna F, Bergman Y, Raman V. Genomic pathways modulated by Twist in breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 52
- [23] Ranganathan S, Krishnan A, Sivasithambaram ND. Significance of twist and iNOS expression in human breast carcinoma [J]. *Mol Cell Biochem*, 2016, 412(1-2): 41-47
- [24] Gao XH, Yang XQ, Wang BC, et al. Overexpression of twist and matrix metalloproteinase-9 with metastasis and prognosis in gastric cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(9): 5055-5060
- [25] 郭莉娜, 黄小梅, 马燕, 等. 缺氧微环境调控 Twist 促进人肝癌细胞株 SMMC-7721 的上皮间质转化[J]. *局解手术学杂志*, 2018, 27(6): 396-401
- [26] 杨帆, 袁昌劲. 微小 RNA-326 靶向调控 TWIST1 表达及对肝癌细胞上皮间质转化的影响[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2019, 24(8): 684-689
- [27] Wang D, Rai B, Qi F, et al. Influence of the Twist gene on the invasion and metastasis of colon cancer[J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(1): 31-44
- [28] Dong P, Kaneuchi M, Watari H, et al. MicroRNA-106b modulates epithelial-mesenchymal transition by targeting TWIST1 in invasive endometrial cancer cell lines[J]. *MMol Carcinog*, 2014, 53(5): 349-359
- [29] Zhou H, Huang Z, Chen X, et al. MiR-98 inhibits expression of TWIST to prevent progression of non-small cell lung cancers [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 1453-1461
- [30] Liu A, Huang C2, Cai X, et al. Twist promotes angiogenesis in pancreatic cancer by targeting miR-497/VEGFA axis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(18): 25801-25814