doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.19.007

miR-125a-5p 转染对肝癌细胞增殖、侵袭、迁移的影响及相关机制研究 *

郭婧芸 张 征△ 袁 琦 方 圆 廖金卯

（湖南省人民医院(湖南师范大学附属第一医院)肝病内科 湖南 长沙 410000）

摘要 目的:探究 miR-125a-5p 转染对肝癌细胞增殖、侵袭、迁移的影响及相关机制。**方法:**将肝癌细胞分为对照组、下调组和上调组,并通过细胞转染建立稳定转染的下调组和上调组。MMT 法检测细胞增殖能力,流式细胞仪检测细胞凋亡能力,Transwell 小室实验检测细胞侵袭能力，细胞划痕实验检测细胞迁移能力,Western blot 法检测 P13K/Akt 通路中 AKT、Bax、Bcl-2、P13K、P-AKT 蛋白表达量。**结果:**与上调组相比,下调组 24、48、72 h 细胞增殖率,细胞侵袭、迁移细胞数,AKT、Bcl-2、P13K、P-AKT 蛋白表达量显著降低,具有统计学差异(29.67± 9.87 vs 17.34± 5.71,t=5.192,P＜0.05、34.75± 11.56 vs 15.17± 5.04,t=7.365,P＜0.05、38.48± 12.81 vs 12.51 ± 4.13,t=9.153,P＜0.05,72.53± 24.17 vs 36.28± 12.07,t=6.365,P＜0.05、86.51± 28.75 vs 46.28± 15.32,t=5.858,P＜0.05,1.26± 0.41 vs 0.81± 0.26,t=4.397,P＜0.05、1.35± 0.44 vs 0.76± 0.24,t=5.584,P＜0.05、1.48± 0.46 vs 0.79± 0.26,t=6.194,P＜0.05、1.22± 0.39 vs 0.73± 0.24,t=5.584,P＜0.05)；与上调组相比,下调组 24、48、72h 细胞凋亡率,Bax 蛋白表达量显著升高,具有统计学差异（17.62± 5.84 vs 29.31± 9.75,t=4.879,P＜0.05、14.97± 4.65 vs 34.19± 11.36,t=7.427,P＜0.05、11.26± 3.74 vs 38.62± 12.86,t=9.690,P＜0.05,0.75± 0.24 vs 1.33± 0.43,t=5.587,P＜0.05)。**结论：**下调 miR-125a-5p 的表达，可通过作用于 P13K/Akt 通路,调控 AKT、Bax、Bcl-2、P13K、P-AKT 蛋白表达量,进而起到抑制肝癌细胞增殖、促进肝癌细胞凋亡以及抑制肝癌细胞的侵袭、迁移能力。

关键词:肝癌细胞;细胞增殖;细胞侵袭;细胞迁移

中图分类号:R-33;R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)19-3639-05

Study on the Effect of miR-125a-5p Transfection on the Proliferation, Invasion and Migration of Hepatoma Cells*

GUO Jing-yun, ZHANG Zheng△, YUAN Qi, FANG Yuan, LIAO Jin-mao

(Department of Hepatology, Hunan Provincial People's Hospital (The First Affiliated Hospital of Hunan Normal University), Changsha, Hunan, 410000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect of miR-125a-5p transfection on the proliferation, invasion and migration of hepatoma cells. **Methods:** Liver cancer cells were divided into control group, down-regulation group and up-regulation group, and stable down-regulation group and up-regulation group were established by cell transfection. Cell proliferation was detected by MMT, apoptosis was detected by flow cytometry, cell invasion was detected by Transwell chamber test, cell migration was detected by cell scratch test, and protein expression of Akt, Bax, Bcl-2, P13K and p-Akt in P13K / Akt pathway was detected by Western blot. **Results:** Compared with the up-regulated group, the down-regulated group had significantly lower cell proliferation rates at 24, 48 and 72 h, cell invasion and cell migration, and the expression levels of AKT, bcl-2, P13K and p-akt were significantly lower in the down-regulated group (29.67± 9.87 vs 17.34± 5.71, t=5.192, P<0.05, 34.75± 11.56 vs 15.17± 5.04, t=7.365, P<0.05, 38.48± 12.81 vs 12.51 ± 4.13, t=9.153, P<0.05). 72.53± 24.17 vs 36.28± 12.07, t=6.365, P<0.05, 86.51± 28.75 vs 46.28± 15.32, t=5.858, P<0.05, 1.26± 0.41 vs 0.81± 0.26, t=4.397, P< 0.05, 1.35± 0.44 vs 0.76± 0.24, t=5.584, P<0.05, 1.48± 0.46 vs 0.79± 0.26, t=6.194, P<0.05, 1.22± 0.39 vs 0.73± 0.24, t=5.584, P<0.05); Compared with the up-regulated group, the apoptosis rate of 24, 48, and 72h cells in the down-regulated group was significantly increased, with statistically significant differences (17.62± 5.84 vs 29.31± 9.75, t=4.879, P<0.05, 14.97± 4.65 vs 34.19± 11.36, t=7.427, P<0.05, 11.26± 3.74 vs 38.62± 12.86, t=9.690, P<0.05, 0.75± 0.24 vs 1.33± 0.43, t=5.587, P<0.05). **Conclusion:** The down-regulation of mir-125a-5p can regulate the expression of Akt, Bax, Bcl-2, P13K and p-Akt protein by acting on P13K / Akt pathway, and then inhibit the proliferation, apoptosis, invasion and migration of hepatoma cells.

Key words: Hepatoma cell; Cell proliferation; Cell invasion; Cell migration

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

Article ID: 1673-6273(2020)19-3639-05

* 基金项目:湖南省卫生健康委科研计划项目(20201712)

作者简介:郭婧芸(1982-),女,硕士,主治医师,研究方向:肝癌,电话:15802654091,E-mail:qiuqiulive06@163.com

△ 通讯作者:张征(1979-),女,硕士,副主任医师,科室主任,研究方向:肝癌、肝硬化,电话:18907489080,E-mail:zhangzheng79@163.com

(收稿日期:2020-04-15 接受日期:2020-05-11)

前言

肝癌是常见的威胁人类健康的恶性肿瘤之一，具有隐匿性、复发率较高、侵袭性较强等特征，在临床治疗中极具难度，且此肿瘤无法彻底根除[1]。有研究显示[2,3]，miRNA 在基因沉默和转录后起调控作用，miRNA 在肝癌中表达具有特异性，多项研究均证实 miRNA 的特异表达与肝癌的发生发展、侵袭转移有密切关联，且在肝细胞癌变的早期时 miRNA 的表达就已发生异常，但它们在肝癌发生发展中的作用机制并未明确[4]。有研究显示 [5,6]，miR-125a 在肝癌组织中水平显著低于癌旁组织，且调控 miR-125a 可有效抑制肝癌细胞增殖、促进细胞凋亡并阻滞 G0/G1 期细胞的发展，在肝癌的发生发展过程起到抑癌基因的作用。但是目前对于 miR-29a 在肝癌中的生物学研究尚不足。本研究通过改变 miR-125a-5p 在肝癌细胞中的表达水平，进一步观察对肝癌细胞生物学特性的影响，并简单阐述 miR-125a-5p 在肝癌的发生发展中所起的作用，为深入了解肝癌发生发展的分子机制及寻找新的分子靶向治疗靶点奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

研究细胞：肝癌细胞购于上海康朗生物科技有限公司；本研究获得我院伦理委员会批准。

主要试剂：胎牛血清购于上海源叶生物科技有限公司；DMEM 培养基购于上海博湖生物科技有限公司；双抗购于北京泽平科技有限责任公司；p-Genesil-NC、p-Genesil-miR-125a 购于厦门研科生物技术有限公司；PBS 缓冲液购于江西江蓝纯生物试剂有限公司；MTT 试剂盒购于上海晶抗生物工程有限公司；信号通路抗体购于北京百奥莱博科技有限公司，本研究获得我院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与转染 将肝癌细胞放入含 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素的 DMEM 培养基中并将其放置于 37℃、5% CO_2 恒温密闭细胞培养箱进行过夜培养，每 2-3 天更换一次培养液，当融合度达到 80%以上时用胰蛋白酶消化传代进行后续实验。取对数生长期细胞进行实验并根据实验设计分为对照组、下调组和上调组，其中对照组细胞不做处理，而下调组、上调组细胞分别转染 p-Genesil-NC 和 p-Genesil-miR-125a。

1.2.2 各组细胞不同时间点增殖能力评价 采用 MMT 法检测细胞增殖能力，将培养后的细胞制成细胞悬液并接种于 96 孔培养板中，将 90 μL 细胞悬液分别加入到各孔中，每个细胞组分别设置 5 个复孔，加入 10 μL 培养液进行细胞培养。在 24 h、48 h、72 h 分别观察培养细胞，待 3 组细胞培养到相同时间后，在每孔中加入 20 μL MTT 继续孵育 4 h 后并收取孔上的上清液，再加入 150 μL DMSO 于孔内摇晃 10 s，采用酶标仪测定细胞组 OD 值，按照肿瘤细胞增殖率 =（细胞组 OD 值 / 参照值-1）× 100%的计算公式，相应计算各组细胞增值率。

1.2.3 各组细胞不同时间点凋亡能力评价 采用流式细胞仪检测细胞凋亡能力。将细胞传代至 5 孔板之中，将细胞放置在 37℃、5%CO_2 的环境中培养并加入 0.25%胰蛋白酶消化，以 2000 r/min 离心 5 min 后加入 PBS 缓冲液进行 2 次的清洗，再次离心并收取细胞，加入 1 mL PI 染液，在常温避光环境下放置 1 h，使用特异荧光进行标记，在高速流动期间会发射出光子，严格按照流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.2.4 各组细胞侵袭、迁移能力评价 采用 Transwell 小室实验检测细胞侵袭能力，每组选 3 个复孔，先使用胰酶消化细胞再使用 PBS 缓冲液进行 1~2 次的清洗，采用 10 g/L 的 BSA 重悬细胞并将细胞密度调整至为 1×10^5 个 / mL，在 Transwell 小室中加入 150 μL 细胞悬液培养 24h 后使用乙醇固定 5 min，再使用结晶紫溶液染色，用外科尖刀片将膜切下后放在玻片上用中性树胶片长期保存，镜下计数并拍照，随机选取 3 个不同的视野计数并取平均值；采用细胞划痕实验检测细胞迁移能力，将细胞接种到 18 孔板中，待细胞增长到 90%时，使用 100 μL 的枪头，垂直划出 3 条直线。之后使用 PBS 缓冲液进行 2~3 次的清洗，分别在各组板孔中加入 0.5%血清培养基，观察 24 h 后，使用倒置显微镜观察各组细胞迁移变化。

1.2.5 P13K/Akt 通路相关蛋白表达量评价 采用 Western blot 法检测 P13K/Akt 通路中相关蛋白表达量，将采集到的样本研磨加入蛋白缓冲液，提取常规蛋白并使用 BCA 法对其进行定量分析。50 μg 蛋白样本上样后通过 SDS-PAGE 电泳的蛋白电转到 PVDF 膜中，加入脱脂奶粉封闭 1 h，洗涤蛋白加入一抗于 3℃环境过夜保存，次日加入二抗于温床孵育 1 h 后洗涤蛋白并加入发光液，曝光 3~4 次，取重叠值。采用软件分析蛋白条带灰度值，内参蛋白为 GAPDH。

1.3 统计学处理

每组实验重复 5 次，采用 SPSS19.0 统计软件包进行统计分析处理。计量资料采用（$\bar{x}\pm s$）描述，多组间比较采用 F 检验，两组间比较采用 t 检验；计数资料采用%描述，$P<0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组细胞不同时间点增殖能力比较

如表 1 所示，下调组 24、48、72 h 细胞增殖率低于对照组，上调组 24、48、72 h 细胞增殖率高于对照组，具有统计学差异（$P<0.05$）；下调组 24、48、72 h 细胞增殖率低于上调组，具有统计学差异（$P<0.05$）。

2.2 各组细胞不同时间点凋亡能力比较

如表 2、图 1 所示，下调组 24、48、72h 细胞凋亡率高于对照组，上调组 24、48、72h 细胞凋亡率低于对照组，具有统计学差异（$P<0.05$）；下调组 24、48、72h 细胞凋亡率高于上调组，具有统计学差异（$P<0.05$）。

2.3 各组细胞侵袭、迁移能力对比

如表 3、图 2、图 3 所示，下调组细胞侵袭、迁移细胞数均低于对照组，上调组细胞侵袭、迁移细胞数均高于对照组，具有统计学差异（$P<0.05$）；下调组细胞侵袭、迁移细胞数均低于上调组，具有统计学差异（$P<0.05$）。

2.4 P13K/Akt 通路相关蛋白表达量比较

如表 4、图 3 所示，下调组 AKT、Bcl-2、P13K、P-AKT 蛋白表达量低于对照组，Bax 蛋白表达量高于对照组，上调组 AKT、Bcl-2、P13K、P-AKT 蛋白表达量高于对照组，Bax 蛋白表达量

低于对照组，具有统计学差异（$P<0.05$）；下调组 AKT、Bcl-2、P13K、P-AKT 蛋白表达量低于上调组，Bax 蛋白表达量高于上调组，具有统计学差异（$P<0.05$）。

表 1 各组细胞不同时间点增殖能力比较[($\bar{x}\pm s$)，%]

Table 1 Comparison of cell proliferation ability at different time points in each group[($\bar{x}\pm s$), %]

Groups	Proliferation rate		
	24 h	48 h	72 h
Control group	19.54± 6.49	22.65± 7.54	25.27± 8.39
Upregulation group	29.67± 9.87[a]	34.75± 11.56[a]	38.48± 12.81[a]
Downregulation group	17.34± 5.71[ab]	15.17± 5.04[ab]	12.51 ± 4.13[ab]
F	5.192	7.365	9.153
P	＜0.05	＜0.05	＜0.05

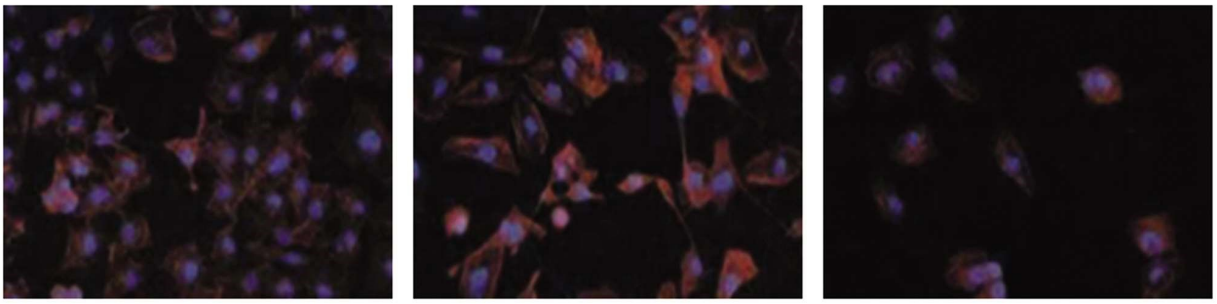
Note: compared with the control group, [a]$P<0.05$; compared with the upregulation group, [b]$P<0.05$.

表 2 各组细胞不同时间点凋亡能力比较[($\bar{x}\pm s$)，%]

Table 2 Comparison of apoptosis ability of cells in different groups at different time points[($\bar{x}\pm s$), %]

Groups	Apoptosis rate		
	24 h	48 h	72 h
Control group	21.48± 7.15	23.69± 7.88	26.53± 8.81
Upregulation group	17.62± 5.84[a]	14.97± 4.65[a]	11.26± 3.74[a]
Downregulation group	29.31± 9.75[ab]	34.19± 11.36[ab]	38.62± 12.86[ab]
F	4.879	7.427	9.690
P	＜0.05	＜0.05	＜0.05

Note: compared with the control group, [a]$P<0.05$; compared with the upregulation group, [b]$P<0.05$.



Downregulation group　　Control group　　Upregulation group

Fig.1 Apoptosis ability of hepatoma cells in each group

表 3 各组细胞侵袭、迁移能力对比[($\bar{x}\pm s$)，个]

Table 3 Comparison of cell invasion and migration ability of each group[($\bar{x}\pm s$), number]

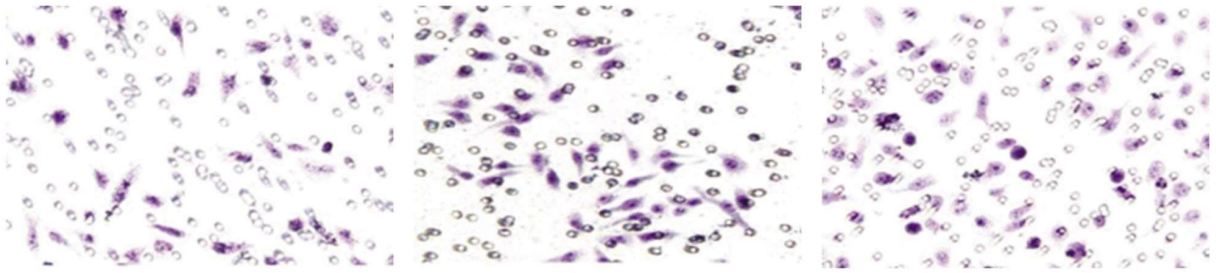
Groups	Number of invasive cells	Number of migrating cells
Control group	56.47± 18.79	62.94± 20.85
Upregulation group	72.53± 24.17[a]	86.51± 28.75[a]
Downregulation group	36.28± 12.07[ab]	46.28± 15.32[ab]
F	6.365	5.858
P	＜0.05	＜0.05

Note: compared with the control group, [a]$P<0.05$; compared with the upregulation group, [b]$P<0.05$.

3 讨论

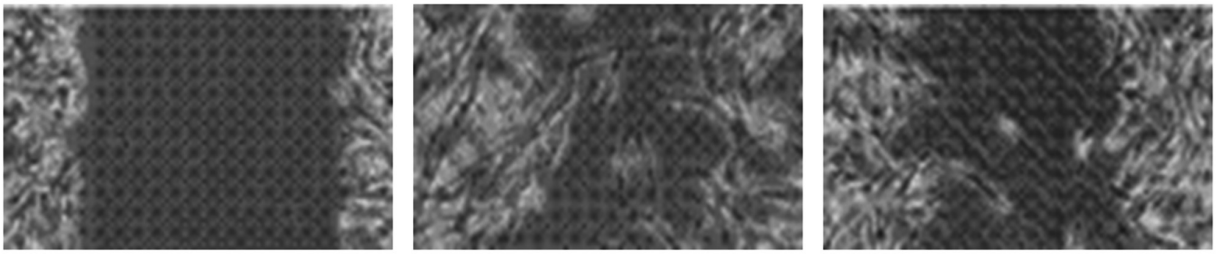
肝癌在我国是常见的恶性肿瘤之一，随着人们生活方式和饮食习惯的改变，此病的发病率逐年呈上升的趋势[7]。有数据显示[8,9]，肝癌是发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一，位居我国常见的恶性肿瘤第 4，肿瘤致死病因的第 3 名。肝癌早期的临

床症状有食欲减退、腹胀、恶心呕吐、腹泻等缺乏特异性的消化道症状，还可能伴随发热、腹壁静脉曲张、异常的瘀伤或出血等，还可能因本身代谢以及癌组织的影响引起一系列的内分泌或代谢异常的类癌综合征，包括高钙血症、低血糖、红细胞增多症、高脂血症[10,11]。微小 RNA（miRNAs）是一种小的非编码 RNA，由 20~22 个核苷酸组成的一种新的基因表达调节物，可通过与目的 mRNA 结合起到降解或抑制目的 mRNA 的翻译。miR-125a-5p 还与肾癌细胞、卵巢癌细胞、非小细胞肺癌相关联，在癌症的发生发展以及预后过程中发挥着重要作用[12-14]。



Downregulation group　　Control group　　Upregulation group

Fig.2 Invasion of hepatoma cells in each group



Downregulation group　　Control group　　Upregulation group

Fig.3 Cell migration of liver cancer in each group

表 4 P13K/Akt 通路相关蛋白表达量比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 4 Comparison of P13K / Akt pathway related protein expression ($\bar{x}\pm s$)

Groups	AKT	Bax	Bcl-2	P13K	P-AKT
Control group	1.05± 0.34	1.02± 0.33	1.04± 0.33	1.09± 0.35	1.13± 0.36
Upregulation group	1.26± 0.41a	0.75± 0.24[a]	1.35± 0.44[a]	1.48± 0.46[a]	1.22± 0.39[a]
Downregulation group	0.81± 0.26ab	1.33± 0.43[ab]	0.76± 0.24[ab]	0.79± 0.26[ab]	0.73± 0.24[ab]
F	4.397	5.587	5.584	6.194	5.076
P	＜0.05	＜0.05	＜0.05	＜0.05	＜0.05

Note: compared with the control group, [a]P＜0.05; compared with the upregulation group, [b]P＜0.05.

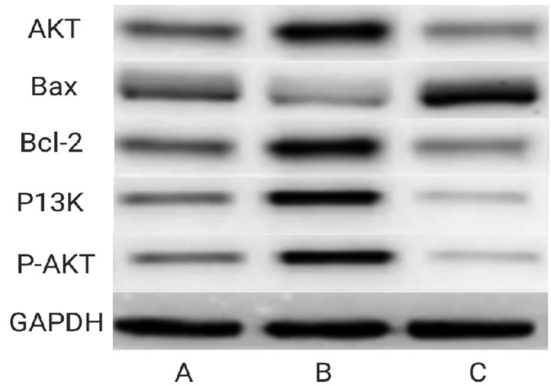


Fig.4 AKT, Bax, Bcl-2, P13K, P-AKT expression WB map

Note: A: Upregulation group; B: Control group; C: Downregulation group.

细胞增殖是生物体的重要生命特征，是生物体生长、发育、繁殖以及遗传的基础，其中分裂是细胞增殖的主要方式，包括有丝分裂、无丝分裂和减数分裂[15]。细胞凋亡则是由基因调控的细胞为了维持内环境稳定而自主有序的死亡[16]。细胞的死亡方式分为细胞坏死和细胞凋亡两种，其中细胞凋亡是细胞的基本生物学现象，在生物的进化、内环境的稳定以及多个系统的发育中起到重要的作用，是一种特殊的细胞死亡类型，而且具有重要的生物学意义及复杂的分子生物学机制[17]。在胡维晟[18]等人的研究中，miR-497 可对定向靶向基因并对其进行转录后的调节，改变肝癌细胞的生物学行为，发挥抑癌的作用。在白璐[19]等人的研究中，miR-129-3p 可通过调控其下游靶基因参与肿瘤的发生和转移，可调控肝癌细胞的生长、分化和转移等过程。目前并未报道过 miR-125a-5p 在肝癌细胞中的作用，在本文研究中，探究 miR-125a-5p 在肝癌细胞发生发展过程中的作用，结果显示，下调 miR-125a-5p 的表达可有效抑制肝癌细胞的增殖并促进其凋亡。

细胞具有趋化性，侵袭实验则利用细胞能释放蛋白水解酶

或能激活基质中已存在的酶原使细胞不断向深层侵袭[20,21]。细胞迁移,亦称细胞移动、细胞运动等,是指细胞接受信号或感受到某些物质的梯度后而产生的移动。在丁琭[22]等人的研究中,miR-3127-5p 通过靶向调控 Cdk10 表达进而肝癌细胞的侵袭和迁移。在马沛 [23] 等人的研究中,miR-325-3p 通过靶向调控 PBOV1 可抑制肝癌细胞增殖和转移。在胡东辉[24]等人的研究中,miR-133 可通过影响 EGFR 基因的表达进而抑制肝癌细胞的侵袭、迁移。在蔡建平[25]等人的研究中,miR-100 在肝癌细胞中呈低表达,上调 miR-100 可抑制肝癌细胞侵袭、迁移,在肝癌的发生发展过程中起重要的作用。而关于 miR-125-5p 在肝癌中的作用目前尚未报道,在本文首次 miR-125a-5p 与肝癌细胞的关系,结果显示,下调组细胞侵袭、迁移能力弱于上调组,说明下调 miR-125a-5p 的表达,可有效的削弱细胞侵袭、迁移能力,改善肝癌患者的临床症状。

P13K/Akt 通路是众多信号通路中较为经典的信号通路之一,其中结肠癌、胃癌、卵巢癌、鼻咽癌、宫颈癌等恶性肿瘤疾病的发生发展都与 P13K/Akt 通路的异常相关联,其中 P-AKT 在多种癌细胞检测中呈高表达[26-28]。AKT 是蛋白激酶 B,对细胞的存活和凋亡中起重要作用,其中 AKT 中的 Thr308 可被 PDK1 磷酸化。Bax 基因是人体最主要的凋亡基因,其与 Bcl-2 的比例是细胞凋亡抑制作用强弱的关键因素，它的表达极为广[29]。P13K 对细胞寿命和组织衰老基因起控制作用，还可通过调节其活性减缓心脏衰老的过程[30]。在本文研究中,miR-125a-5p 通过作用于 P13K/Akt 通路,调控 AKT、Bax、Bcl-2、P13K、P-AKT 蛋白表达量,进而抑制肝癌细胞的增殖,促进肝癌细胞的凋亡,抑制细胞的侵袭、迁移能力。

综上所述，下调 miR-125a-5p 的表达，可通过作用于 P13K/Akt 通路,调控 AKT、Bax、Bcl-2、P13K、P-AKT 蛋白表达量,进而起到抑制肝癌细胞增殖、促进肝癌细胞凋亡以及抑制肝癌细胞的侵袭、迁移能力。

参考文献(References)

[1] 徐海煜,鱼军,葛鹏.肿瘤标记物对原发性及继发性肝癌患者的诊疗价值[J].实用癌症杂志, 2019, 34(2): 289-292

[2] Oura K, Fujita K, Morishita A, et al. Serum microRNA-125a-5p as a potential biomarker of HCV-associated hepatocellular carcinoma [J]. Oncol Lett, 2019, 18(1): 882-890

[3] 安澜,曾红梅,郑荣寿,等.2015 年中国肝癌流行情况分析[J].中华肿瘤杂志, 2019, 41(10): 721-727

[4] Zekri AN, El-Sisi ER, Youssef ASE, et al. MicroRNA Signatures for circulating CD133-positive cells in hepatocellular carcinoma with HCV infection[J]. PLoS One, 2018, 3(3): e0193709

[5] 林辉,周懿,周燚,等.miR-301b-3p 通过靶向 SATB2 抑制肝癌细胞增殖[J].贵州医药, 2020, 44(2): 171-174

[6] 沙娅·玛哈提, 迪娜·艾尼瓦尔, 肖蕾,等. miR-29a 靶向调控 CLDN1 抑制肝癌细胞增殖的实验研究 [J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(6): 887-891

[7] Bharali D, Jebur H B, Baishya D, et al. Expression Analysis of Serum microRNA-34a and microRNA-183 in Hepatocellular Carcinoma[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2018, 19(9): 2561-2568

[8] Wang F, Wang J, Ju L, et al. Diagnostic and prognostic potential of serum miR-132/212 cluster in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Annals of Clinical Biochemistry, 2018, 55(5): 576-582

[9] 张稳稳,郑曦孜,郑小红,等.晚期原发性肝癌药物研究进展[J].中国医药导报, 2019, 16(33): 28-31

[10] 师玉卓,付婷,思广慧,等.微小核糖核酸 -375 与肝细胞肝癌关系的研究进展[J].中华老年多器官疾病杂志, 2019, 18(12): 938-941

[11] Hayes CN, Chayama K. MicroRNAs as Biomarkers for Liver Disease and Hepatocellular Carcinoma[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(3): 280

[12] 何晶晶, 朱凯.miR-125a-5p 对卵巢癌细胞的增殖迁移和侵袭能力的影响[J].安徽医学, 2019, 40(9): 961-965

[13] 杨明,姜泰茂,刘兴凯,等.miR-125a-5p 通过靶向 STAT3 抑制肾癌细胞增殖和侵袭及其可能机制[J].中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(11): 1235-1242

[14] 陈亚新,孟凡亮.miR-125 a-5 p 在非小细胞肺癌血清中的表达及其意义[J].安徽医学, 2019, 40(1): 26-29

[15] Sia D, Villanueva A, Friedman SL, et al. Liver Cancer Cell of Origin, Molecular Class, and Effects on Patient Prognosis [J]. Gastroenterology, 2017, 152(4): 745-761

[16] Aran G, Sanjurjo L, Bárcena C, et al. CD5L is upregulated in hepatocellular carcinoma and promotes liver cancer cell proliferation and antiapoptotic responses by binding to HSPA5 (GRP78)[J]. FASEB J, 2018, 32(7): 3878-3891

[17] Tadokoro T, Fujihara S, Chiyo T, et al. Induction of apoptosis by Galectin-9 in liver metastatic cancer cells: In vitro study [J]. Int J Oncol, 2017, 51(2): 607-614

[18] 胡维晟,潘伟滨,林海端,等.miR-497 促进肝癌 MHCC97L 细胞增殖和迁移[J].海南医学院学报, 2020, 26(5): 325-329

[19] 白璐, 马英杰, 王郁杰.miR-129-3p 靶向 LPAR3 调控肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的分子机制[J].胃肠病学和肝病学杂志, 2020, 29(1): 7-14

[20] Zheng J, Zhou Z, Xu Z, et al. Serum microRNA-125a-5p, a useful biomarker in liver diseases, correlates with disease progression [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 1584-1590

[21] Fekir K, Dubois-Pot-Schneider H, Désert R, et al. Retrodifferentiation of Human Tumor Hepatocytes to Stem Cells Leads to Metabolic Reprogramming and Chemoresistance [J]. Cancer Res, 2019, 79 (8): 1869-1883

[22] 丁琭,王亮,石磊.miR-3127-5p 靶向抑制 Cdk10 表达促进肝癌细胞迁移与侵袭[J].西安交通大学学报(医学版), 2020, 41(1): 90-96

[23] 马沛,李连海,刘甫.MiR-325-3p 通过靶向 PBOV1 抑制人肝癌细胞增殖、迁移和侵袭[J].临床与病理杂志, 2020, 40(3): 540-546

[24] 胡东辉,黄橘村,张建军.MiR-133 靶向表皮生长因子受体抑制肝癌细胞的侵袭和迁移 [J]. 东南大学学报 (医学版), 2019, 38(6): 1044-1049

[25] 蔡建平,周湘鸿,余海波,等.微小 RNA-100 表达对肝癌细胞侵袭和迁移的影响[J].中华肝胆外科杂志, 2019, 25(10): 725-727

[26] 蔡岳,詹磊,王晓东,等.皂荚提取物对肝癌细胞 PTEN/P13K/AKT 信号通路表达的影响[J].时珍国医国药, 2018, 29(4): 843-845

[27] 朱晓志, 王冬梅, 王丽蓉 .miR-200b-5p 靶向 ATAD2 调控 P13K/AKT 信号通路参与宫颈癌血管生成的作用机制[J].中国性科学, 2019, 28(7): 42-46

[28] 张刚,郭剑,李杰,等.P13K/AKT/mTOR 信号通路在胃癌组织中的表达及意义[J].广东医学, 2016, 37(9): 1330-1332

[29] 张海增,全慧,单晓琼,等.Apelin-13 通过 PI3K/Akt 信号通路抑制尼古丁诱导的 H9c2 细胞凋亡 [J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(8): 1352-1358

[30] 佟辉,李涛,申川,等.s 腺苷蛋氨基酸通过抑制 P13K/AKT/mTOR 通路调控 HepG2 肝癌细胞自噬作用研究 [J]. 中国继续医学教育, 2017, 9(23): 205-207