

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.12.005

miRNA-145-5p 调控 FMNL2 基因对口腔鳞癌干细胞增殖、迁移的影响*

谭力芯 叶艳艳 熊宇 税桦桦 黄文静 丁大莲 曾宁碧 赵希[△]

(陆军军医大学第一附属医院口腔科 重庆 400038)

摘要 目的:分析 miRNA-145-5p 调控形成素 2(formin-like 2, FMNL2)基因对口腔鳞癌干细胞增殖、迁移的影响。**方法:**按照脂质体 2000 说明书对细胞进行转染 miRNA-145-5p inhibitor 及 miRNA-145-5p mimics,按照实验设计,将其分为空白组、沉默组(miRNA-145-5p inhibitor)及过表达组(miRNA-145-5p mimics)。荧光定量 PCR 法检测 miRNA-145-5p、FMNL2 表达量,MTT 检测细胞增殖能力,流式细胞仪检测细胞凋亡能力,细胞划痕实验检测细胞迁移能力,采用 Western blot 法检测各组细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白表达量。**结果:**过表达组 miRNA-145-5p、Bax 蛋白表达量,凋亡率,细胞 G0/G1 比例高于沉默组,具有统计学差异($P<0.05$);过表达组口腔鳞癌干细胞增殖率,FMNL2 表达量、MMP-13、 β -catenin、Bcl-2、APC 蛋白表达量低于沉默组,具有统计学差异($P<0.05$);过表达组口腔鳞癌干细胞迁移能力弱于沉默组,具有统计学差异($P<0.05$)。**结论:**miRNA-145-5p 通过靶向调控 FMNL2,作用于 Wnt/ β -catenin 信号通路调控口腔鳞癌干细胞,进而抑制细胞增殖、迁移。

关键词:miRNA-145-5p;形成素 2;口腔鳞癌干细胞

中图分类号:R-33;R739.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)12-2221-05

Effects of miRNA-145-5p Regulating FMNL2 Gene on Proliferation and Migration of Oral Squamous Cell Carcinoma Stem Cells*

TAN Li-xin, YE Yan-yan, XIONG Yu, SHUI Hua-hua, HUANG Wen-jing, DING Da-lian, ZENG Ning-bi, ZHAO Xi[△]

(Department of stomatology, First Affiliated Hospital of Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

ABSTRACT Objective: To analyze the effect of miRNA-145-5p regulating homologous morphogen-like protein 2 (FMNL2) gene on the proliferation and migration of oral squamous cell carcinoma stem cells. **Methods:** Transfect cells with miRNA-145-5p inhibitor and miRNA-145-5p mimics according to the liposome 2000 instructions, and divide them into blank group, silent group (miRNA-145-5p inhibitor) and overexpression group according to the experimental design (miRNA-145-5p mimics). Fluorescence quantitative PCR method was used to detect the expression of miRNA-145-5p and FMNL2, MTT to detect cell proliferation, flow cytometry to detect cell apoptosis, cell scratch test to detect cell migration ability, Western blot to detect Wnt in each group of cells / β -catenin signaling pathway protein expression. **Results:** The overexpression group miRNA-145-5p, Bax protein expression, apoptosis rate, cell G0/G1 ratio were higher than the silent group, with statistical differences ($P<0.05$); overexpression group oral squamous cell carcinoma stem cell proliferation rate, FMNL2 expression The protein expression levels of MMP-13, β -catenin, Bcl-2, and APC were lower than those in the silent group, with statistical differences ($P<0.05$); the migration ability of oral squamous cell carcinoma stem cells in the overexpression group was weaker than that in the silent group, with statistical significance Difference ($P<0.05$). **Conclusion:** By targeting FMNL2, miRNA-145-5p acts on Wnt/ β -catenin signaling pathway to regulate the proliferation and migration of OSCC stem cells.

Key words: miRNA-145-5p; Morphogen 2; Oral squamous cell carcinoma stem cells

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R739.8 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)12-2221-05

前言

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是可发生局部浸润且转移能力较强的恶性肿瘤,具有一定的隐匿性,故大多数患者确诊时已处在中晚期阶段^[1,2]。近年来,其发病率呈逐年增长的趋势,大多数患者经手术治疗后疗效并不理想且预后效果较差,术后 5 年的生存率低于 50%。口腔鳞癌的早

期症状主要是局部病损处呈溃疡型、菜花型、外生型的表现,并且会缓慢增大,难以愈合,若同侧的颌下区或者颈部可扪及肿大的淋巴结,可伴有疼痛或者麻木感^[3]。口腔鳞癌的发生于发展是一个多基因参与、多步骤的复杂调控过程。FMNL2 基因是效应分子属于 Rho 家族且在致癌的中起着关键的作用,有研究表明^[4],其与胃癌、肺癌、大肠癌等恶性肿瘤有密切关联,且与细胞迁移、侵袭、转移等生物学行为正相关。新近研究表明 miR-

* 基金项目:教育部留学回国人员科研启动基金项目(HG2015-002);院级军科基金项目(SWH2016JSTS YB-40N)

作者简介:谭力芯(1989-),男,硕士,主治医师,主要研究方向:口腔颌面外科

[△] 通讯作者:赵希(1982-),男,硕士,主治医师,研究方向:口腔医学,电话:023-68754439, E-mail: 736460853@qq.com

(收稿日期:2020-09-21 接受日期:2020-10-17)

NA-145-5p 在口腔鳞癌等癌组织和癌细胞中呈特异性表达,提示其可能在疾病的发生发展过程中起作用^[56]。因此,本研究主要探讨 miRNA-145-5p 调控 FMNL2 基因对口腔鳞癌干细胞增殖、迁移的影响,旨在为为口腔鳞癌的发病机制提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

口腔鳞癌细胞株购于苏州瑞诺德生物科技有限公司;胎牛血清购于舜冉(上海)生物科技有限公司;MMP-13、 β -catenin、Bcl-2、Bax、APC 抗体购于武汉益普生物科技有限公司;PCR 扩增仪以及 Western blot 电泳仪均购于美国 Bio-Rad 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 临床标本收集与细胞培养 32 例人口腔鳞癌组织均取自我院口腔鳞癌患者手术切除标本且临床标本取材均通过所在医院伦理委员会审批许可,仅用于实验研究。新鲜标本经液氮冻存用于组织 RNA 的提取。将口腔鳞癌细胞放置在含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基于 37℃ 5% CO₂ 饱和湿度环境下培养。

1.2.2 细胞转染与分组 按照 Lipofectamine® LTX 说明书,应用 Lipofectamine2000 试剂将 miRNA-145-5p inhibitor 及 miRNA-145-5p mimics 转染口腔鳞癌细胞,分为沉默组和过表达组,转染 24 h 后将细胞正常培养,并于 -80℃ 保存,供后续实验使用,而对照组不做任何特殊处理。

1.2.3 miRNA-145-5p、FMNL2 表达量检测 采用实时荧光定量 PCR 测定 miRNA-145-5p、FMNL2 表达量,反应条件:42℃ 3 min、60℃ 15 min、85℃ 5 min;以 cDNA 为模板,利用 ChamQ Universal SYBRqPCR Master Mix 进行 QPCR,反应体系为 20 μ L,反应条件:95℃ 2 min,40 个循环的 60℃ 5 s、95℃ 10 s。以 U6 为内参,以 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 表示相对表达量,实验重复 3 次。miRNA-145-5p 上游引物:5'-TCACGGTCCAGTTTCCAG-3',下游引物:5'-GGAAGGAGCAAATCCAGCT-3';U6 上游引物:5'-TGGAAAGGACGAAACACCGT-3',下游引物:5'-ATTTGCGTGCATCCTTGCG-3'。采用免疫组化试剂盒检测 FMNL2,实验步骤:制作细胞爬片并使用 95%乙醇将其固定 20 min,一抗为鼠 FMNL2 抗体,二抗为羊抗鼠即用型抗体,苏木素复染,其中阳性信号为棕黄色,按染色的深浅将阳性分为弱阳性(+)、阳性(++)、强阳性(+++)。

1.2.4 各组细胞增殖、凋亡能力以及周期情况比较 采用 MTT 比色法检测细胞增殖能力,收集对数生长期细胞并接种于 100 孔板放置于 37℃、5% CO₂ 过夜培养,调制细胞悬液,每孔细胞悬液 10³ 个/200 μ L,分别在 24 h、48 h、72 h 吸去上清,加入 100 μ L 新鲜完全培养基,再加入 10 μ L MTT 溶液培养 3 h 后去掉上清,各孔加入 120 μ L Formazan 溶解液,放置摇床上低速震荡 10 min,充分溶解结晶物质,并使用酶联免疫检测仪 490 nm 处检测各孔吸光度数值。采用流式细胞仪检测细胞凋亡能力以及周期情况,将细胞传代至 5 孔板之中,将细胞放置在 37℃、5% CO₂ 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。

1.2.5 细胞划痕实验检测细胞迁移能力 将细胞接种到 18 孔板中,增长到 90%时,使用 100 μ L 的枪头,垂直划出 3 条直线。之后经过 PBS 缓冲液进行清洗 2~3 次,分别加入 0.5%的血清培养基,观察 24 h 之后,使用倒置显微镜观察各组细胞的迁移数量。

1.2.6 Wnt/ β -catenin 信号通路检测 采用 Western blot 法检测各组细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白表达量,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 μ g 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 统计学方法

采用软件 SPSS 17.0 行统计分析,所有数值用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA-145-5p、FMNL2 在口腔鳞癌干细胞中的表达

如图 1 所示,过表达组 miRNA-145-5p 表达量高于空白组,FMNL2 表达量低于空白组,沉默组 miRNA-145-5p 表达量低于空白组,FMNL2 表达量高于空白组,具有统计学差异($P < 0.05$);过表达组 miRNA-145-5p 表达量高于沉默组,FMNL2 表达量低于沉默组,具有统计学差异($P < 0.05$)。如图 2 所示,FMNL2 在空白组和沉默组呈强阳性,在过表达组呈弱阳性。

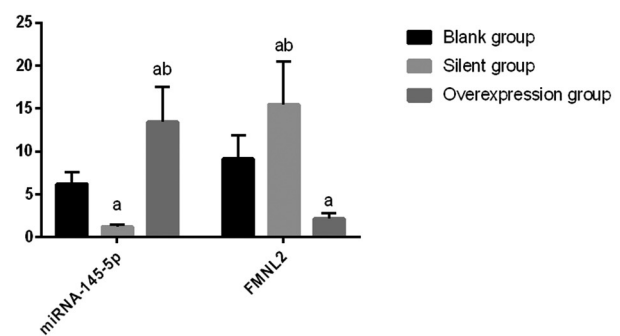


图 1 miRNA-145-5p、FMNL2 在口腔鳞癌干细胞中的表达

Fig.1 The expression of miRNA-145-5p and FMNL2 in oral squamous cell carcinoma stem cells

2.2 miRNA-145-5p 转染口腔鳞癌干细胞增殖率、凋亡率比较

如图 3、图 4 所示,过表达组口腔鳞癌干细胞增殖率低于空白组、凋亡率高于空白组,沉默组口腔鳞癌干细胞增殖率高于空白组、凋亡率低于空白组,具有统计学差异($P < 0.05$);过表达组口腔鳞癌干细胞增殖率低于沉默组、凋亡率高于过表达组,具有统计学差异($P < 0.05$)。

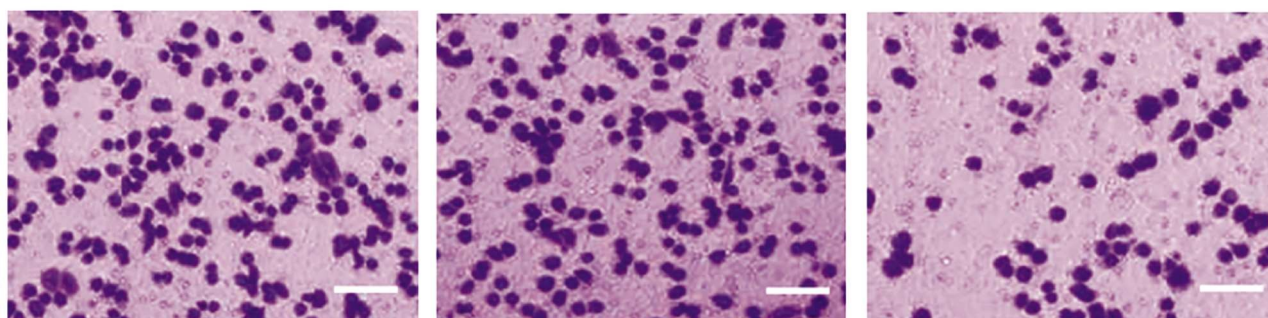
2.3 miRNA-145-5p 转染口腔鳞癌干细胞周期分布的影响

如图 5 所示,过表达组细胞 G₀/G₁ 比例高于空白组,沉默组 G₀/G₁ 比例低于空白组,具有统计学差异($P < 0.05$);过表达组细胞 G₀/G₁ 比例高于沉默组,具有统计学差异($P < 0.05$)。

2.4 miRNA-145-5p 转染口腔鳞癌干细胞迁移能力的影响

如图 6 所示,过表达组口腔鳞癌干细胞迁移能力弱于空白组,沉默组口腔鳞癌干细胞迁移能力强于空白组具有统计学差

异($P<0.05$);过表达组口腔鳞癌干细胞迁移能力弱于沉默组,具有统计学差异($P<0.05$)。



Blank group

Silent group

Overexpression group

图 2 FMNL2 免疫组化图

Fig.2 Immunohistochemistry map of FMNL2

Note: Compared with the blank group, ^a $P<0.05$; compared with the silent group, ^b $P<0.05$.

Comparison of cell proliferation rate

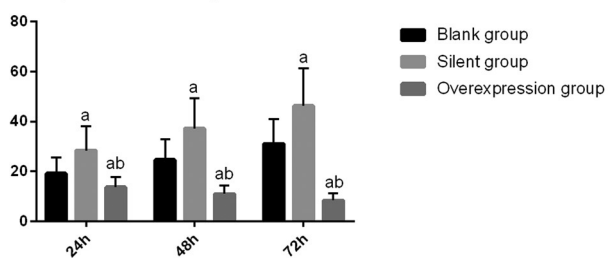


图 3 miRNA-145-5p 转染口腔鳞癌干细胞增殖率

Fig.3 Proliferation rate of oral squamous cell carcinoma stem cells transfected by miRNA-145-5p

Comparison of cell apoptosis rate

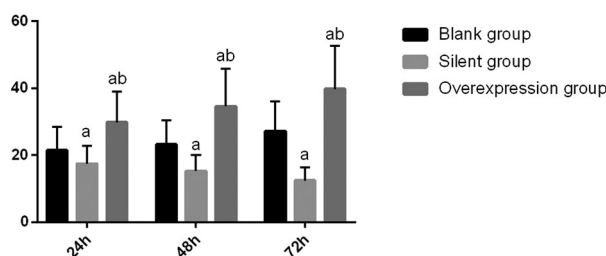


图 4 miRNA-145-5p 转染口腔鳞癌干细胞凋亡率

Fig.4 Apoptosis rate of oral squamous cell carcinoma stem cells transfected by miRNA-145-5p

Note: Compared with the blank group, ^a $P<0.05$; compared with the silent group, ^b $P<0.05$.

Comparison of cell cycle distribution

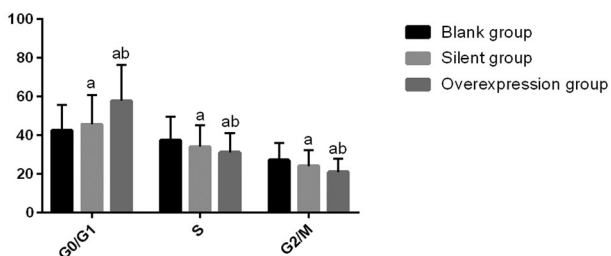


图 5 miRNA-145-5p 转染口腔鳞癌干细胞周期分布

Fig.5 The cycle distribution of stem cells transfected by miRNA-145-5p in oral squamous cell carcinoma

Note: Compared with the blank group, ^a $P<0.05$; compared with the silent group, ^b $P<0.05$.

2.5 Wnt/ β -catenin 信号通路蛋白表达量比较

如图 7 所示,过表达组 MMP-13、 β -catenin、Bcl-2、APC 蛋白表达量低于空白组,Bax 蛋白表达量高于空白组,沉默组 MMP-13、 β -catenin、Bcl-2、APC 蛋白表达量高于空白组,Bax 蛋白表达量低于空白组,具有统计学差异($P<0.05$);过表达组 MMP-13、 β -catenin、Bcl-2、APC 蛋白表达量低于沉默组,Bax 蛋白表达量高于过表达组,具有统计学差异($P<0.05$)。

3 讨论

口腔癌浸润性强且易于复发和转移,晚期口腔鳞癌多呈浸

润性生长并且有向远处转移的迹象,普通外科手术难以将其彻底切除,传统化疗也无法很好的根治口腔鳞癌且预后效果并不理想。目前对于口腔鳞癌的病因和发病机制尚未统一,研究证实口腔鳞癌细胞的远处迁移在其中其关键作用^[7-10]。因此,探究口腔鳞癌细胞的迁移机制、防治靶点、新的干预策略显得极其重要,可在一定程度上辅助口腔鳞癌的治疗和预防,有效改善口腔鳞癌患者的预后效果^[11-13]。

MicroRNA(miRNA)是非编码单链 RNA 分子,不同 miRNA 在肿瘤中所具有的功能也不同,可能为抑癌基因、也可能为促癌基因,在肿瘤的发生发展过程中起一定的作用^[14-16]。有研究显示^[17],miRNA-145 位于人类第 5 号染色体长臂 3 区 2 带,其在肺腺癌组织中呈低表达,提示其可能为抑制性 miRNA,其原因可能为 miRNA-145 编码基因上游启动子区域存在较多胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤基序(CpG)位点,DNA 甲基化对基因的表达具有直接调节作用。在丁黎黎^[18]等人研究中,过表达 miRNA-145 可抑制乳腺癌细胞增殖活性、促进恶性肿瘤细胞凋亡、调控细胞周期。在朱琳^[19]等人研究中,miRNA-145 在结肠癌的发生机制中发挥重要作用,miRNA-145 在结肠癌细胞中呈低表达并发挥抑癌作用,有望成为结肠癌诊治的新型生物靶点。FMNL2 编码蛋白质属于进化上保守 formin 家族的蛋白质成员,可调节细胞骨架、细胞边缘突起的肌动蛋白聚集因子,还对

肌动蛋白聚合和形成的结构域有所影响^[20,21]。在张灿灿^[22]等人研究中,FMNL2 在近几年肿瘤研究中是一个热点,FMNL2 在胃癌组织中呈高表达,且与胃癌恶性程度相关、促进淋巴结转移,提示其在胃癌的发生发展以及转移中发挥着重要作用。在杜晶晶^[23]等人研究中,FMNL2 在肺癌细胞中表达显著高于正

常细胞,提示其在肺癌过程中表现为高表达,且发挥着促癌基因的功能。在本文研究中,过表达 miRNA-145 可沉默 FMNL2 表达,证实 miRNA-145 与 FMNL2 之间的靶向关系,miRNA-145 有望成为口腔癌治疗中的潜在靶点。

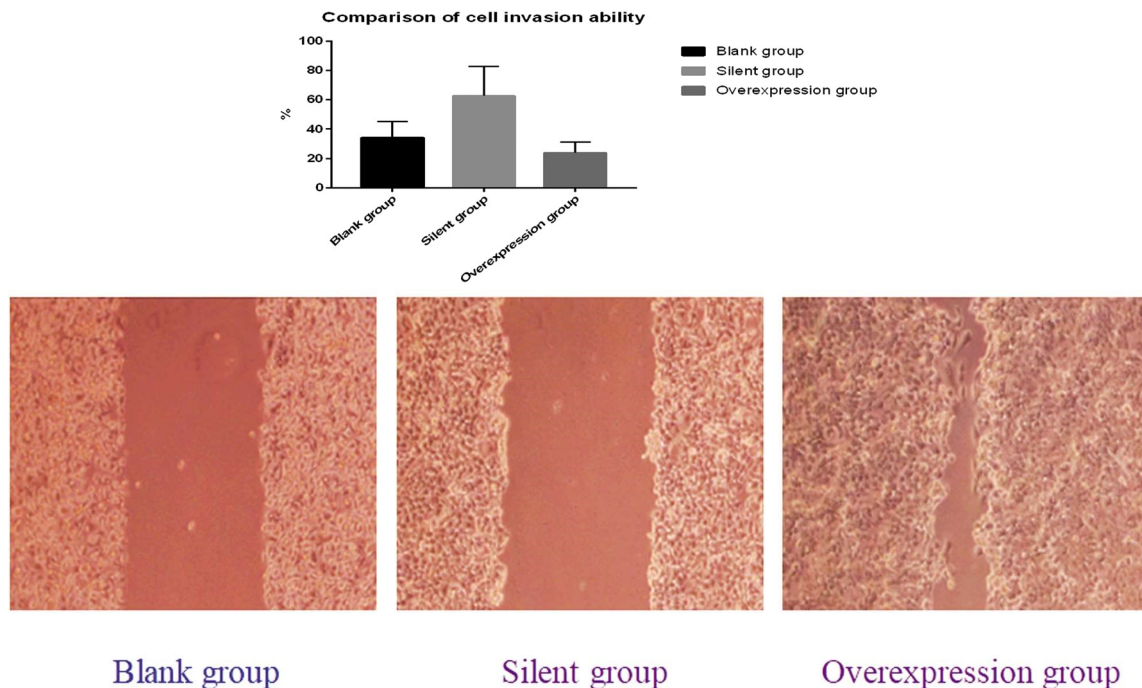


图6 miRNA-145-5p 转染口腔鳞癌干细胞迁移能力的影响

Fig.6 Effect of miRNA-145-5p on the migration ability of oral squamous cell carcinoma stem cells

Note: Compared with the blank group, ^a $P < 0.05$; compared with the silent group, ^b $P < 0.05$.

Wnt/ β -catenin 信号通路是由配体蛋白质 Wnt 和膜蛋白受体激发的一组多下游通道的信号传导途径,可调控生物体的信号传导,在细胞的迁移、组织修复以及多种良性恶性肿瘤的发生发展过程中起着关键作用^[24-26]。有研究显示^[27],Wnt/ β -catenin 信号通路中 β -catenin 可与 APC 等形成多聚蛋白复合体,其表达程度与癌细胞侵袭、迁移能力呈正相关,且可与 MMP-13 之类的基质金属蛋白酶共同作用促进肿瘤血管生产,并参与癌症的浸润、转移。 β -catenin 在 Wnt/ β -catenin 信号通路中作为关键调控因子,且其浓度达到一定水平时可向细胞核内转移,激活下游 CyclinD1 等原癌基因,进而导致细胞增殖、分化和成熟^[28]。APC 是 Wnt/ β -catenin 信号通路成员之一,若其突变可激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,促使细胞的恶性转化^[29]。BAX 是与 BCL-2 同源的水溶性相关蛋白,Bcl-2 家族主要由抗凋亡成员 Bcl-2 及促凋亡成员 Bax 组成,其中 Bcl-2 可通过减少线粒体色素 C 的释放,进而发挥抗凋亡的作用;Bax 则通过升高线粒体膜通透性、释放细胞色素 C,进而发挥诱导凋亡作用^[30,31]。但是在口腔鳞癌中,miRNA-145-5p 在口腔鳞癌细胞中的研究目前尚未见报道。因此,我们进一步检测了 miRNA-145-5p 对 FMNL2 基因表达的影响。在本文研究中,沉默组 miRNA-145-5p、FMNL2 表达量高于空白组、阴性对照组和过表达组,提示 miRNA-145-5p 可能通过下调 FMNL2 的表达进而抑制口腔鳞癌细胞的增殖、迁移,表明 FMNL2 在 miRNA-145-5p 介导的口腔鳞癌细胞迁移中发挥重要作用。

综上所述,我们推测过表达 miRNA-145-5p 或沉默 FMNL2 可能通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路调控下游靶基因转录激活,从而抑制口腔鳞癌细胞的增殖、迁移。

参考文献(References)

- [1] Thomson PJ. Perspectives on oral squamous cell carcinoma prevention- proliferation, position, progression and prediction [J]. J Oral Pathol Med, 2018, 47(9): 803-807
- [2] Chandolia B, Rajliwal JP, Bajpai M, et al. Prognostic Potential of N-Cadherin in Oral Squamous Cell Carcinoma via Immunohistochemical Methods [J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2017, 27 (8): 475-478
- [3] De Paz D, Kao HK, Huang Y, et al. Prognostic Stratification of Patients With Advanced Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma[J].Curr Oncol Rep, 2017, 19(10): 65
- [4] Trott KE, Briddell JW, Corao-Urube D, et al. Dyskeratosis Congenita and Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: Report of a Case and Literature Review[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2019, 41(6): 501-503
- [5] Pelliccioli ACA, Bingle L, Farthing P, et al. Immunosurveillance profile of oral squamous cell carcinoma and oral epithelial dysplasia through dendritic and T-cell analysis [J]. J Oral Pathol Med, 2017, 46(10): 928-933
- [6] Kazakydasan S, Rahman ZA, Ismail SM, et al. Prognostic significance of VEGF-C in predicting micrometastasis and isolated tumour cells in N0 oral squamous cell carcinoma[J]. J Oral Pathol Med, 2017, 46(3):

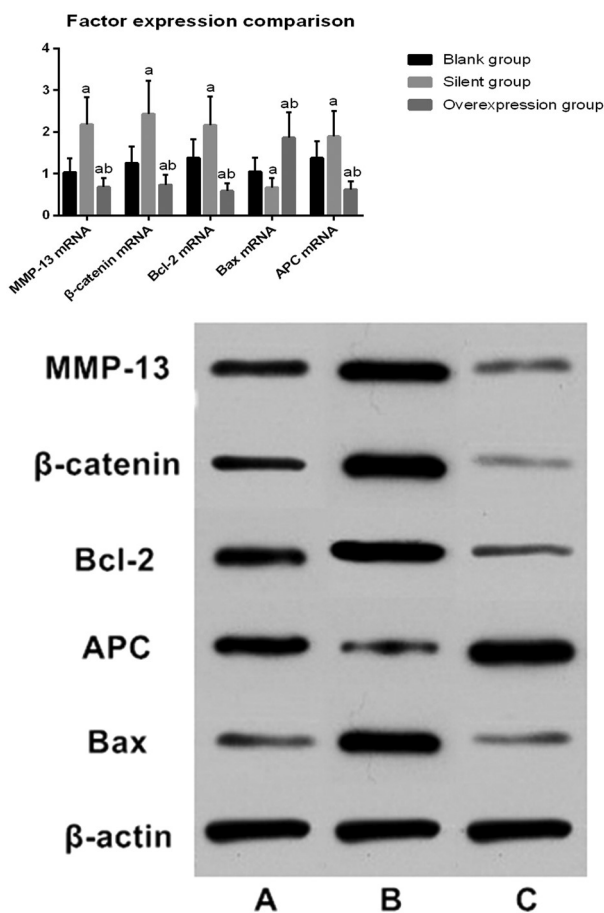


图7 Wnt/β-catenin 信号通路蛋白表达量比较

Fig.7 Comparison of Wnt/β-catenin signaling pathway protein expression
 Note: Compared with the blank group, ^a*P*<0.05; compared with the silent group, ^b*P*<0.05. A: Blank group; B: Silent group; C: Overexpression group.

194-200

[7] Hill SJ, D'Andrea AD. Predictive Potential of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Organoids [J]. *Cancer Discov*, 2019, 9 (7): 828-830

[8] Imani R, Seyedmajidi M, Ghasemi N, et al. HLA-G Expression is Associated with an Unfavorable Prognosis of Oral Squamous Cell Carcinoma[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19(9): 2527-2533

[9] Adnan Ali SM, Naeem S, Mirza Y, et al. Significance of immunohistochemical overexpression of cyclooxygenase-2 in overall and disease-free survival of oral squamous cell carcinoma patients [J]. *J Laryngol Otol*, 2018, 132(12): 1102-1109

[10] Feitosa SG, Viana KF, Luna ECM, et al. Immunohistochemical Evaluation of GLUT-3 and GLUT-4 in Oral Epithelial Dysplasia and Oral Squamous Cell Carcinoma [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19(7): 1779-1783

[11] D'Souza G, Robbins HA. Sexual and relationship health among survivors of oropharyngeal or oral cavity squamous cell carcinoma[J]. *Cancer*, 2017, 123(7): 1092-1094

[12] Kochurova EV, Nikolenko VN, Mukhanov AA, et al. Stomatologicheskij status kak prognosticheskiy faktor razvitiia ploskokletochnogo raka slizisto? obolochki polosti rta Dental status as a predictive factor

in the development of squamous cell carcinoma of the oral mucosa[J]. *Stomatologiya (Mosk)*, 2019, 98(4): 34-37

[13] D'Souza G, Robbins HA. Sexual and relationship health among survivors of oropharyngeal or oral cavity squamous cell carcinoma [J]. *Cancer*, 2017, 123(7): 1092-1094

[14] 张宁, 宁立强, 杨海军, 等. miR-338 通过靶向 NR1P1 抑制口腔鳞癌细胞侵袭与转移[J]. *肿瘤药学*, 2019, 09(6): 879-885

[15] 李启期, 吕锡旌, 周政, 等. 微小 RNA-224 对口腔鳞状细胞癌细胞侵袭转移和 KLLN 表达的影响 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2020, 25(2): 127-132

[16] 陈智慧, 张昌艳, 杨红春, 等. miRNA-23 靶向 gremlin1 调节肝癌细胞的生物学功能分析[J]. *河北医药*, 2019, 41(21): 3316-3318, 3322

[17] 李雨晴, 刘红春, 朱峰. 转染 miRNA-145-黏结合蛋白多糖-2siRNA 对膀胱癌 T24 细胞增殖、分化的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2019, 54(2): 262-267

[18] 丁照黎, 谷见法, 张飞翔. miRNA-145 过表达增强卵巢癌顺铂化疗敏感性的机制分析[J]. *癌症进展*, 2020, 18(9): 907-912

[19] 朱琳, 曾庆松, 王续. 微小 RNA-145-5p 对结肠癌细胞增殖凋亡和 FSCN1 表达的影响[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2019, 24(11): 999-1003

[20] 李雨晴, 刘红春, 朱峰. 转染 miRNA-145-黏结合蛋白多糖-2siRNA 对膀胱癌 T24 细胞增殖、分化的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2019, 54(2): 262-267

[21] 刘勇, 阮思蓓, 吕沐瀚, 等. 转移相关基因 FMNL2 参与胃癌侵袭转移的相关性分析[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2018, 34(4): 439-441

[22] 张灿灿, 谭志军. FMNL2 在胃癌组织中的表达及其临床意义[J]. *天津医科大学学报*, 2020, 26(2): 149-152

[23] 杜晶晶, 刘凤华. FMNL2 对人肺癌 HCC827 细胞生物学功能的影响[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2019, 53(4): 377-380

[24] 王骞, 谭林, 屈伟明, 等. Wnt/β-catenin 信号通路在胃癌中的研究进展[J]. *医学综述*, 2020, 26(10): 1935-1940

[25] 庄焕伟, 白树堂, 符洪捷, 等. miR-199a 通过 Wnt3a/β-catenin 信号通路调控非小细胞肺癌细胞的生物学活动[J]. *实用医学杂志*, 2020, 36(18): 2515-2521

[26] 蔡蕤, 灵芝三萜通过 Wnt/β-catenin 信号通路对肝癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. *中成药*, 2020, 42(5): 1320-1324

[27] 翁军权, 范海东, 许力强, 等. MiR-520b 调控 Wnt/β-catenin 信号通路促进舌鳞状细胞癌侵袭转移[J]. *中华口腔医学研究杂志(电子版)*, 2020, 14(3): 155-163

[28] 尹磊, 刘伟, 胡玉燕, 等. 胃癌间质干细胞活化 Wnt/β-catenin 信号通路促进胃癌细胞增殖及迁移作用的探讨[J]. *临床检验杂志*, 2020, 38(5): 371-375

[29] 段万里, 王莉, 任伟, 等. miR-613 通过下调 Wnt/β-catenin 信号通路活性抑制前列腺癌细胞的增殖与侵袭[J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28(11): 1821-1825

[30] 常昆鹏, 魏珍星, 李斐, 等. circRNA-ITCH 通过 TET1 基因抑制 Wnt/β-catenin 信号通路对鼻咽癌细胞增殖和侵袭的影响[J]. *医学研究杂志*, 2020, 49(7): 156-160

[31] 殷晓明, 刘安定, 朱红娟, 等. 长基因间非编码 RNA842 对非小细胞肺癌细胞侵袭转移和 Wnt/β-catenin 信号通路的影响[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2020, 25(9): 790-795