

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.10.006

miR-598 对结直肠癌细胞转移潜能的影响 *

邵俊^{1,3} 马俐君² 杨成广³ 陈颖² 丁慧⁴ 赵刚^{1Δ}

(1 上海交通大学医学院附属仁济医院胃肠外科 上海 200127; 2 上海交通大学医学院附属同仁医院肿瘤科 上海 200336;

3 上海交通大学医学院附属同仁医院普外科 上海 200336; 4 上海交通大学医学院附属同仁医院检验科 上海 200336)

摘要 目的:探讨 miR-598 在结直肠癌转移中的作用和分子机制,为寻找新的结直肠癌治疗靶标提供理论依据。**方法:**收集 30 对人结直肠癌及癌旁正常组织标本,采用 qRT-PCR 检测 miR-598 的表达,采用 Transwell 和划痕实验确定 miR-598 对结直肠癌细胞侵袭和迁移能力的影响,利用在线靶基因预测软件,筛选出 miR-598 可能的下游靶基因 Jagged 1(JAG1),利用 Western blot 及双荧光素酶报告基因实验检测 miR-598 对 JAG1 及上皮间质转化标志物(Vimentin 及 E-cadherin)表达的影响。**结果:**与正常肠黏膜组织对比,miR-598 在结直肠癌组织中的表达水平明显降低;miR-598 显著抑制结直肠癌细胞的侵袭及迁移能力;分子机制分析证实 miR-598 能够作用于 JAG1 的 3'-UTR 并抑制其表达;过表达 miR-598 显著下调 Vimentin 的表达水平,而提高 E-cadherin 的表达水平。**结论:**miR-598 在人结直肠癌中表达明显下调;miR-598 通过靶向调控靶基因 JAG1 的表达,抑制结直肠癌细胞 EMT,从而有效的抑制了结直肠癌细胞的侵袭和迁移。

关键词:结直肠癌;miR-598;侵袭和迁移;Jagged 1

中图分类号:R-33; R735.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)10-1822-05

The Function of MiR-598 in Colorectal Cancer Metastasis*

SHAO Jun^{1,3}, MA Li-jun², YANG Cheng-guang³, CHEN Ying², DING Hui⁴, ZHAO Gang^{1Δ}

(1 Department of Gastrointestinal, Renji Hospital Affiliated to School of Medicine of Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200127, China; 2 Department of Oncology, Tongren Hospital Affiliated to School of Medicine of Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200336, China; 3 Department of Surgery, Tongren Hospital Affiliated to School of Medicine of Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200336, China; 4 Department of Clinical Laboratory, Tongren Hospital Affiliated to School of Medicine of Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200336, China)

ABSTRACT Objective: To explore the regulatory role and the underlying mechanisms of miR-598 in human colorectal cancer (CRC) migration and invasion, laying a foundation for formulating novel therapeutic target for treatment of CRC. **Methods:** We detected miR-598 expression in 30 pairs of CRC tissues and paired adjacent normal tissues using qRT-PCR analysis; The effects of miR-598 on invasion and migration ability of CRC cells were determined using Transwell and Wound-healing assays when miR-598 were over-expressed and silenced. miRNA target analysis tools miRanda, TargetScan and DIANA-microT were used to explore potential target of miR-598; Jagged 1 (JAG1) was predicted to be a target of miR-598; The expression of JAG1 and epithelial mesenchymal transition (EMT) marks (Vimentin and E-cadherin) was detected by western blotting and luciferase reporter assay. **Results:** miR-598 expression was significantly lower in CRC tissues than that in normal mucosa; The ability of invasion and migration of CRC were decreased when miR-598 were over-expressed, and were enhanced when miR-598 were silenced; Biological information method predicted that JAG1 was a target of miR-598, and further showed that miR-598 can directly bind the 3'UTR of JAG1 by luciferase reporter assay. Western blot revealed that the expression of the JAG1 and Vimentin (one of EMT markers) were decreased after miR-598 over-expression, while E-cadherin which was another EMT marker was increased. MiR-598 inhibitor took the opposite results. **Conclusion:** miR-598 was downregulated in CRC, and then inhibited the occurrence of EMT in CRC, which suppressed the ability of invasion and migration of CRC through negatively regulating JAG1 expression.

Key words: Colorectal cancer; MicroRNA-598; Invasion and migration; Jagged 1

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)10-1822-05

结直肠癌在常见的癌症中位居第三位,占全球癌症相关死亡最常见原因的第四位^[1,2]。近些年来,虽然化疗能够有效地减少肿瘤细胞生长并抵制转移性进展,但它随着肿瘤具备较强的耐药性而失去功效,从而导致疾病复发和死亡。因此,寻求新的

* 基金项目:上海市自然科学基金项目(13ZR1430800)

作者简介:邵俊(1976-),男,硕士,主治医师,研究方向:普外科疾病,E-mail: hishaojun05126@hotmail.com

Δ 通讯作者:赵刚(1976-),男,主任医师,副教授,研究方向:胃肠外科疾病

(收稿日期:2016-08-31 接受日期:2016-09-25)

治疗方法来克服这个难题,通过深入了解结直肠癌发生发展的分子机理来针对性的对其进行预防和诊断,将对提高结直肠癌治疗有重要的临床指导意义,也是现在肿瘤学的迫切任务。MicroRNA(简称 miRNA 或 miR)是一类长度约 22 nt 的小分子非编码 RNA,其与靶基因 3' 非编码区结合,通过抑制翻译或降解 mRNA 的方式进行转录后水平的负调控,进而影响机体的多种生理和病理过程(如器官分化、细胞增殖、凋亡等)。近年来的研究发现,结直肠癌等多种肿瘤在其发生发展、侵袭转移过程中均伴随着 miRNAs 的异常表达,异常表达的 miRNAs 通过调控靶基因的表达而起到癌基因(OncomiRNA)或抑癌基因(Tumor suppressor miRNA)的作用^[3-5]。随着 miRNA 肿瘤调控作用机制研究的不断深入,一些 miRNAs 作为肿瘤诊治和预后判断的新靶点已转化进入临床试验^[5-7],为肿瘤的预防和诊治开辟了崭新的领域。以往的研究发现,miR-598 在多种肿瘤中异常表达,其中包括尤文氏肉瘤^[8]、前列腺癌^[9]、食道癌^[10],但其在结直肠癌中的表达未见报道。本课题将深入研究 miR-598 对结直肠癌转移的影响并深入剖析其潜在的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 临床组织的获得和保存处理 收集 30 对自 2014 年 1 月到 2014 年 9 月在上海交通大学附属同仁医院普外科临床手术病人的结直肠癌及癌旁正常组织标本,组织标本获取获得医院伦理委员会通过,并获得患者家属知情同意。组织标本均经病理学检测确定为腺癌。所有标本及时置于液氮中保存。

1.1.2 细胞株 人结直肠癌细胞系 SW620 和 HT-29 由上海交通大学医学院附属仁济医院病理实验室提供。

1.1.3 实验试剂 胎牛血清(FBS)和 RPMI-1640 培养液购自美国 Gibco 公司。各种分子操作试剂(如 Taq 酶、反转录试剂盒、qRT-PCR 检测试剂盒等)购自大连 TaKaRa 公司。miR-598 mimics、miR-598 inhibitor 和 LipofectamineTM2000 购自美国 Genecopocia 公司。Trizol 和 BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天生物公司。Transwell 小室购自美国 BD 公司。双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国 Promega 公司。Jagged 1、E-cadherin、Vimentin 等一抗购自美国 Sigma 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 SW620 和 HT-29 细胞系在 RPMI-1640 细胞培养液中培养(含 10%的胎牛血清),置于 37℃ 含有 5% CO₂ 的培养箱中进行培养。实验采用处于对数生长期的细胞,分为阴性对照组、SW620/miR-598 mimics 组和 HT-29/miR-598 inhibitor 组。转染方法根据 LipofectamineTM2000 试剂盒说明书操作。

1.2.2 组织中总 RNA 的提取 组织放入液氮中研磨,加入 Trizol 试剂裂解,根据常规方法进行 RNA 提取,并测定 RNA 浓度。

1.2.3 构建荧光素酶报告基因载体 将 JAG1 3'-UTR 克隆至 PGL3-Basic,得到野生型质粒 PGL3-JAG1 3'-UTR-WT。同样地,将点突变后的基因 JAG1 3'-UTR-MUT 克隆至 PGL3-Basic 载体,得到突变型质粒 PGL3-JAG1 3'-UTR-MUT。

1.2.4 qRT-PCR 及 Northern blot 检测组织及细胞中 miR-598 的

表达 提取组织和细胞 RNA,逆转录实验方法参照 miScript Reverse Transcription Kit 试剂盒说明书。实时定量 PCR 按照 miScript SYBR Green PCR Kit 说明书进行,每组设 3 个复孔,重复 3 次。组织和细胞 RNA 用琼脂糖凝胶进行电泳分离,后转印至 PVDF 膜上,将膜在 6× SSC 中浸泡 5 min,以去除膜上残留的凝胶,膜置 80℃,真空干烤 1-2 hr,将膜与预杂交液 5 mL,42℃ 预杂交 3 hr,然后将变性的探针(95-100℃ 变性 5 min,冰浴 5 min)加入到预杂交液中,42℃ 杂交 16hr。2× SSC/0.1%SDS 室温洗 15 min,0.2× SSC/0.1%SDS,55℃ 洗 15 min× 2 次。将膜用 ddH₂O 漂洗片刻,用滤纸吸去膜上水分。用薄型塑料纸将膜包好,置于暗盒中,在暗室中压上 X 光片。暗盒置 -70℃ 放射自显影 3~7 天左右。

1.2.5 Transwell 迁移实验 结直肠癌细胞转染 miR-598 mimics 及 miR-598 inhibitor 24 h 后,将 5 × 10⁵ 细胞接种至含无血清培养基的内室,并将小室置于含完全培养基(10%胎牛血清)的下室,细胞常规培养。48 h 后进行甲醇固定、结晶紫染色,显微镜下观察并计数。

1.2.6 划痕实验 在细胞转染前 24 h 的时候用胰酶液消化细胞并进行计数,取一定量的细胞接种到 6 孔板,当细胞融合度达到 75%左右进行转染。24 h 后,用 200 μL 枪头沿直线划过板底,清洗后加入 2.5%胎牛血清培养基,在划痕后 0 h、36 h 取样,拍照。

1.2.7 Western blot 提取细胞总蛋白,用 10% SDS-PAGE 进行分离,电转法转印至 PVDF 膜上,加入待检 JAG1 单克隆一抗抗体,在冰箱中 4℃ 孵育过夜,从冰箱中拿出后用 PBS 冲洗膜 3 次,加入 HRP 标记的二抗,在室温中孵育 45 min,TBST 洗膜 3 次,常规显色,扫描拍照。

1.2.8 双荧光素酶报告基因实验 采用双荧光素酶报告基因检测试剂盒进行双荧光素酶活性分析。转染前一天,将 5 × 10⁴ 个 HT-29 细胞接种到 24 孔板中细胞,当细胞融合度达到 60% 时进行转染。共分 3 组:miR-598 mimics+PGL3-vector、miR-598 mimics+JAG1 3'-UTR-WT、miR-598 mimics+JAG1 3'-UTR-MUT。转染 24 h 后按照 Dual-Luciferase® Reporter Assay System 说明书检测荧光素酶活性。

1.3 统计学分析

SPSS 13.0 被用于统计分析,数据表示为平均值±标准偏差(SD)。各组间比较采用方差分析,双独立样本 t 检验用来确定 P 值,当 P<0.05,差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-598 在结直肠癌中的表达

qRT-PCR 结果表明,30 例癌组织标本中 miR-598 的表达较癌旁组织显著降低(P<0.001),推测肿瘤组织中异常表达的 miR-598 可能参与到结直肠癌的发生发展过程,见图 1。

2.2 在结直肠癌细胞中过表达和抑制 miR-598 效果

qRT-PCR 结果提示,miR-598 在 SW620 细胞中的表达较 HT-29 细胞低,见图 2。因此,我们在 SW620 细胞中进行 miR-598 过表达,而在 HT-29 细胞中抑制 miR-598 表达的实验。SW620 瞬时转染 miR-598 mimics 后,miR-598 的表达较在对照组中明显增加(t=-8.654,P<0.005),见图 3;HT-29 转染

miR-598 inhibitor 后,miR-598 的表达较在对照组中显著下调 ($t=7.173, P<0.005$), 见图 3。Western blot 检测 miR-598 在

HT-29 细胞及 SW620 细胞中的蛋白水平表达结果与 qRT-PCR 结果一致,见图 4。

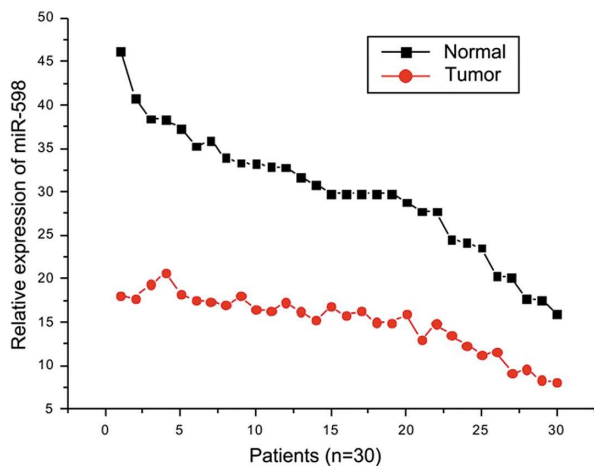


图 1 miR-598 在结直肠癌及正常粘膜组织中的表达

Fig. 1 Expression of miR-598 in CRC tissues and paired normal mucosa tissues

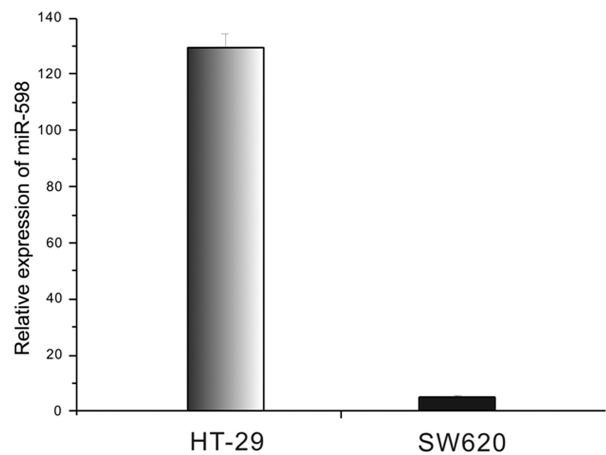


图 2 miR-598 在 HT-29 及 SW620 细胞中的表达

Fig. 2 Expression of miR-598 in HT-29 and SW620 cell lines

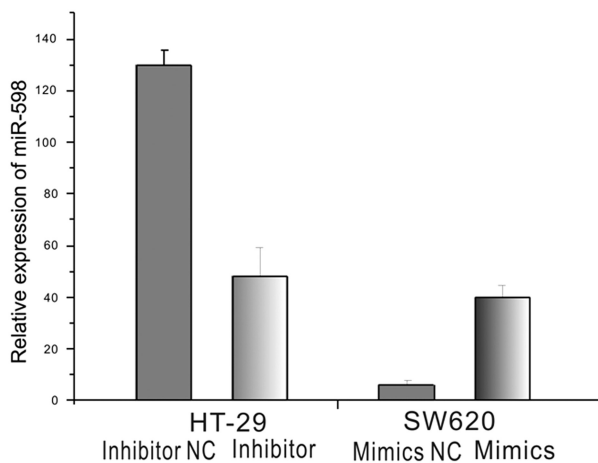


图 3 SW620 和 HT-29 细胞分别瞬时转染 miR-598 mimics 及 miR-598 inhibitor 后 miR-598 的表达

Fig. 3 Expression of miR-598 in SW620 and HT-29 cells after transfected with miR-598 mimics or miR-598 inhibitor

2.3 miR-598 对结直肠癌细胞侵袭和迁移能力的影响

SW620 细胞转染 miR-598 mimics 后,使用 Transwell 迁移实验检测细胞迁移能力就,见图 5,转染 miR-598 mimics 细胞的迁移能力比对照组显著减少($t=18.264, P<0.001$)。在 HT-29 细胞中,miR-598 inhibitor 转染组细胞的迁移能力比对照组显著增加($t=12.31, P<0.001$),见图 6。此外,划痕实验结果显示,SW620/miR-598 细胞在 0 至 36 h 间迁移平均距离为 0.832 mm,而对照组细胞迁移平均距离为 0.438mm($t=17.328, P<0.001$); HT-29/miR-598 inhibitor 细胞迁移平均距离为 0.966 mm,而对照组细胞 0.517 mm($t=8.214, P<0.005$)。这些结果表明 miR-598 抑制结直肠癌细胞的迁移能力。

2.4 miR-598 作用靶点的预测及验证

利用 miRanda、TargetScan 及 DIANA-microT 三种经典的生物信息学软件预测了 miR-598 可能的下游靶基因,发现

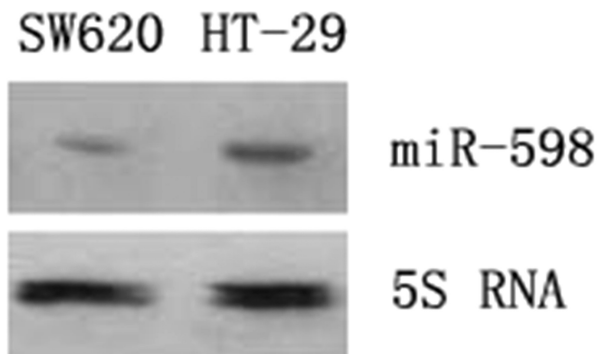


图 4 miR-598 在 HT-29 细胞及 SW620 细胞中的表达

Fig. 4 Expression of miR-598 was detected in SW620 and HT-29 cells

JAG1 是多个软件共同预测的靶基因,在 JAG1 3'-UTR 上存在一个 miR-598 的作用靶点,见图 7。在随后的荧光素酶报告基因实验中,HT29 细胞分别共转染质粒 JAG1-3'-UTR-MUT 与 miR-598、JAG1-3'-UTR-WT 与 miR-598。结果显示,共转染 JAG1-3'-UTR-WT 和 miR-598 后 JAG1 的荧光素酶活性较共转染 JAG1-3'-UTR-MUT 和 miR-598 后显著下降 (0.398 vs. $0.912, P=0.001$); Western Blot 检测发现在转染 miR-598/mimics 的 HT-29 组细胞中 JAG1 的表达较对照组显著降低,而在转染 miR-598/inhibitor 的 HT-29 组细胞中 JAG1 的表达显著上调,见图 8。

2.5 miR-598 对结直肠癌细胞 EMT 的影响

Western blot 结果显示,在 SW620 细胞组,miR-598/mimics 转染细胞上皮细胞标志物 E-cadherin 表达较对照细胞显著增加,而间质细胞标志物 Vimentin 表达显著降低,见图 9;相反,在 HT-29 细胞中,miR-598/inhibitor 组细胞中 E-cadherin 表达下调,Vimentin 表达上调,见图 10;HT-29 细胞转染 miR-598 inhibitor 后,细胞形态发生改变,由椭圆形变为长梭型,细胞间粘附能力降低,表明由上皮向间质细胞转化,见图 11。

3 讨论

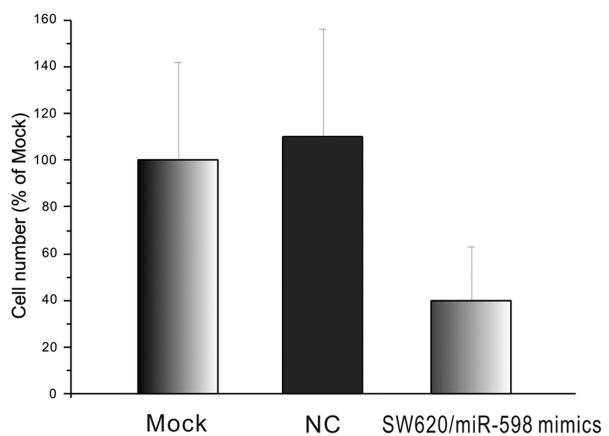


图 5 miR-598 对 SW620 细胞迁移能力的影响

Fig. 5 The effect of miR-598 on the migration ability of SW620 cells

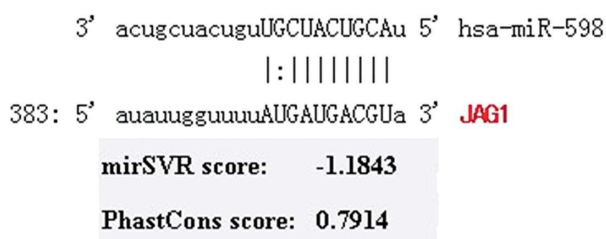


图 7 JAG1 是 miR-598 潜在的一个靶基因

Fig. 7 JAG1 was a potential target of miR-598

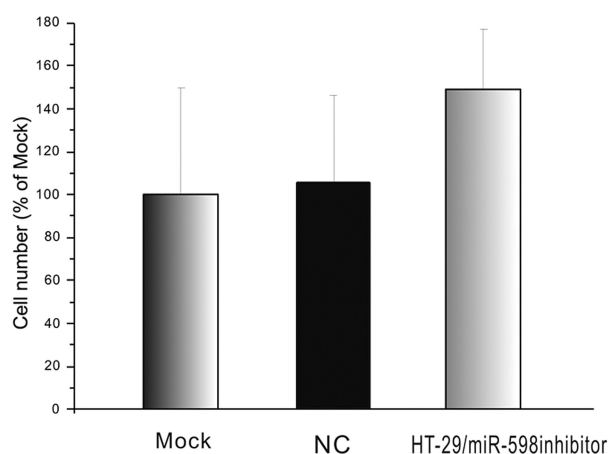


图 6 miR-598 对 HT-29 细胞迁移能力的影响

Fig. 6 The effect of miR-598 on the migration ability of HT-29 cells

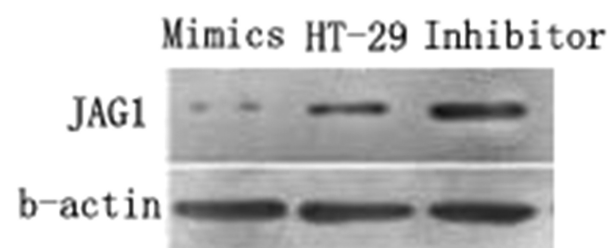


图 8 HT-29 细胞过表达和抑制 miR-598 后 JAG1 的表达

Fig. 8 Expression of JAG1 in HT-29 cells after transfected with miR-598 mimics or miR-598 inhibitor

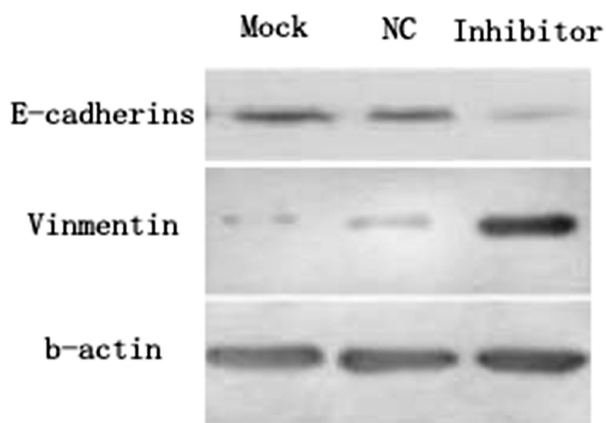


图 9 HT-29 转染 miR-598 inhibitor 后 E-cadherin 及 Vimentin 的表达

Fig. 9 The expression of E-cadherin and Vimentin in HT-29 cells after transfected with miR-598 inhibitor

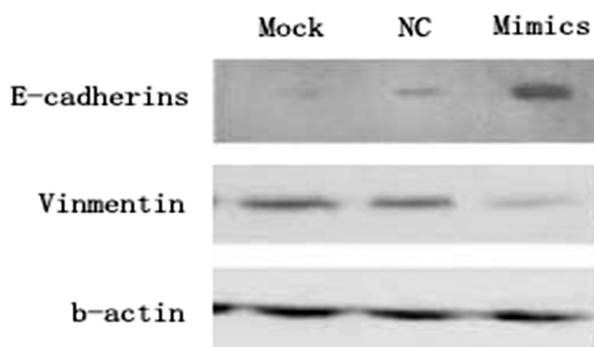


图 10 SW620 过表达 miR-598 后 E-cadherin 及 Vimentin 的表达

Fig. 10 The expressions of E-cadherin and Vimentin in SW620 cells after transfected with miR-598 mimics

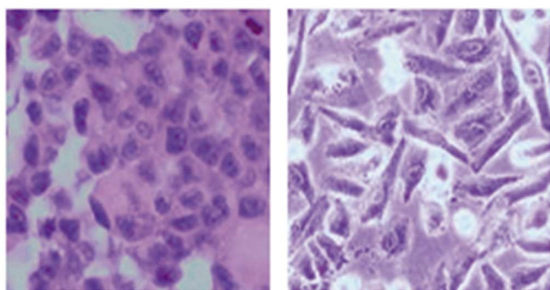


图 11 HT-29 转染 miR-598 inhibitor 后细胞形态变化

Fig. 11 Morphologic change of HT-29 cells after transfection with miR-598 inhibitor

结直肠癌作为一种常见的消化道恶性肿瘤,其发病率和死亡率一直居高不下,五年总体生存率在 40%至 60%之间^[2,11]。转移是造成结直肠癌患者死亡的主要原因。结直肠癌转移是一个复杂的多步骤的过程,它通常是指癌细胞从原发处脱落、穿透基底膜和细胞外基质、经淋巴、血液或直接播散至相邻的组织或远处器官,最后形成肿瘤灶的过程。在这个过程中,局部浸润经常会引起肿瘤细胞上皮间质化,即上皮细胞转换成为具有活动能力的间质细胞并获得侵袭和迁移能力的过程^[12]。近年来的研究表明,miRNAs 在肿瘤的转移过程中起到极其重要的调控作用。miR-95、miR-133a、miR-139、miR-224 等多种 miRNAs 与结直肠癌转移密切相关^[13-16]。miRNA 的异常表达可能是结直肠癌侵袭转移的重要机制,但 miRNA 异常表达的调控机制尚不清楚,且不同 miRNA 在细胞内的表达丰度存在

很大差异^[17]。

本文主要研究了 miR-598 在结直肠癌中的表达及作用。结果显示,与正常肠黏膜组织相比,miR-598 在临床癌组织标本中的表达显著降低。外源增加 miR-598 的表达显著抑制癌细胞的迁移及侵袭能力;反之,下调 miR-598 的表达则促进细胞的侵袭及迁移能力。此外,miR-598 能够抑制细胞上皮间质转化,即抑制 Vimentin 的表达,促进 E-cadherin 表达。

Jagged 1 是哺乳动物中第一个被证实的 Notch 受体的配体,存在于哺乳动物细胞膜上,通过与邻近细胞表面的 Notch 受体胞外结构域结合而触发 Notch 信号通路。当 Jagged 1 与 Notch 受体胞外结构域相互作用后,Notch 受体胞内域经蛋白酶裂解成可溶性 Notch 蛋白 (Intracellular Notch, Notch IC), Notch IC 转位入核,与 CSL (CBF1, Suppressor of Hairless, Lag-1) 家族成员的转录因子结合,激活 HES 和 HRT (HEY) 家族成员 (靶基因),从而调节靶基因的转录,在细胞正常发育、分化、增殖、凋亡和多种疾病包括肿瘤的发生发展中发挥重要作用^[18-20]。近来的研究表明^[21], Jagged1/Notch 信号通路活化在肿瘤细胞 EMT 过程中发挥了关键的作用; Jagged 1/Notch 信号通路能够通过调控其下游靶基因诱导或促进 EMT 发生,从而使恶性肿瘤上皮细胞获得更强的侵袭力和远处转移能力。本研究发现,miR-598 能够直接作用于 JAG1 的 3'-UTR,引起 JAG1 的表达下调。

总之,本研究首次发现 miR-598 在结直肠癌中的表达下调,使得其下游的靶基因 Jagged1 表达上调,进而激活 Jagged1/Notch 信号通路,该通路的激活促进结直肠癌发生上皮间质转化,促进结直肠癌的侵袭和转移;本研究揭示 miR-598 可能作为结直肠癌肿瘤诊治和预后判断的一个新的靶点。

参考文献 (References)

- [1] 代珍,郑荣寿,邹小农等.中国结直肠癌发病趋势分析和预测[J].中华预防医学杂志,2012,46(7): 598-603
Dai Zhen, Zheng Rong-shou, Zou Xiao-nong, et al. Analysis and prediction of colorectal cancer incidence trend in China[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2012, 46(7): 598-603
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A, et al. Cancer statistics, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29
- [3] He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation[J]. Nat Rev Genet, 2004, 5(7): 522-531
- [4] Erhard F, Haas J, Lieber D, et al. Widespread context dependency of microRNA-mediated regulation[J]. Genome Res, 2014, 24(6): 906-919
- [5] Tong AW, Nemunaitis J. Modulation of miRNA activity in human cancer: a new paradigm for cancer gene therapy? [J]. Cancer Gene Ther, 2008, 15(6): 341-355
- [6] Nana-Sinkam SP, Croce CM. Clinical applications for microRNAs in cancer[J]. Clin Pharmacol Ther, 2013, 93(1): 98-104
- [7] Gao X, Wang Y, Zhao H, et al. Plasma miR-324-3p and miR-1285 as diagnostic and prognostic biomarkers for early stage lung squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2016
- [8] Mosakhani N, Guled M, Leen G, et al. An integrated analysis of miRNA and gene copy numbers in xenografts of Ewing's sarcoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2012, 31, 24
- [9] Corcoran C, Rani S, O'Driscoll L. miR-34a is an intracellular and exosomal predictive biomarker for response to docetaxel with clinical relevance to prostate cancer progression [J]. Prostate, 2014, 74(13): 1320-1334
- [10] Zhao BS, Liu SG, Wang TY, et al. Screening of microRNA in patients with esophageal cancer at same tumor node metastasis stage with different prognoses [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(1): 139-143
- [11] Li Q, Zou CX, Zou CD, et al. MicroRNA-25 functions as a potential tumor suppressor in colon cancer by targeting Smad7[J]. Cancer Lett, 2013, 335(1): 168-174
- [12] Sánchez-Tilló E, de Barrios O, Siles L, et al. β -catenin/TCF4 complex induces the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)-activator ZEB1 to regulate tumor invasiveness[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(48): 19204-19209
- [13] Wang H, An HY, Wang B, et al. miR-133a represses tumour growth and metastasis in colorectal cancer by targeting LIM and SH3 protein 1 and inhibiting the MAPK pathway [J]. Eur J Cancer, 2013, 49(18): 3924-3935
- [14] Gao J, Li N, Dong Y, et al. miR-34a-5p suppresses colorectal cancer metastasis and predicts recurrence in patients with stage II/III colorectal cancer[J]. Oncogene, 2015, 34(31): 4142-4152
- [15] Shen K, Liang QN, Xu K, et al. MiR-139 inhibits invasion and metastasis of colorectal cancer by targeting the type I insulin-like growth factor receptor[J]. Biochem Pharmacol, 2012, 84(3): 320-330
- [16] Yuan KF, Xie K, Fox J, et al. Decreased levels of miR-224 and the passenger strand of miR-221 increase MBD2, suppressing maspin and promoting colorectal tumor growth and metastasis in mice [J]. Gastroenterology, 2013, 145(4): 853-64.e9
- [17] Hinck L, Näthke I. Changes in cell and tissue organization in cancer of the breast and colon[J]. Curr Opin Cell Biol, 2014, 26: 87-95
- [18] Chen LC, Zhang W, Yan W, et al. The putative tumor suppressor miR-524-5p directly targets Jagged-1 and Hes-1 in glioma [J]. Carcinogenesis, 2012, 33(11): 2276-2282
- [19] Yi F, Amarasinghe B, Dang TP. Manic fringe inhibits tumor growth by suppressing Notch3 degradation in lung cancer [J]. Am J Cancer Res, 2013, 3(5): 490-499
- [20] Kode A, Manavalan JS, Mosialou I, et al. Leukaemogenesis induced by an activating β -catenin mutation in osteoblasts [J]. Nature, 2014, 506(7487): 240-244
- [21] Espinoza I, Pochampally R, Xing F, et al. Notch signaling: targeting cancer stem cells and epithelial-to-mesenchymal transition [J]. Onco Targets Ther, 2013, 6: 1249-1259