

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.21.031

## MicroRNA-21 在卵巢癌病灶转移过程中的作用及机制研究\*

梁婉琪 赵宗霞 李芬霞 常丽花 杨淑梅<sup>△</sup>

(西安医学院第二附属医院 妇产科 陕西 西安 710032)

**摘要 目的:**探讨 microRNA-21 在卵巢癌病灶转移过程中的作用及其机制。**方法:**选取本院 2016 年 6 月-2018 年 5 月收治的 138 例卵巢癌患者,其中 63 例出现结直肠转移,75 例未发现转移。qRT-PCR 分别检测两组患者肿瘤组织、癌旁组织和正常组织中 microRNA-21 的表达;Western blot 检测两组患者肿瘤组织中 PGDH、PGE2、Twist 表达。通过转染过表达载 has-microRNA-21 上调 A2780 细胞中 microRNA-21 的表达,采用平板克隆实验检测细胞克隆形成能力,Trans-well 细胞迁移实验和侵袭实验分别检测细胞迁移和侵袭能力。Western blot 检测 PGDH、PGE2、Twist 蛋白表达。**结果:**卵巢癌转移组肿瘤组织中 microRNA-21 表达高于未转移组、癌旁组织和正常卵巢组织( $P<0.05$ ),卵巢癌转移组肿瘤组织中 PGDH 表达低于未转移组,而 PGE2、Twist 表达高于未转移组( $P<0.05$ )。microRNA-21 过表达的 A2780 细胞平板克隆形成能力、迁移和侵袭能力及上皮间质转化相关蛋白 PGE2 和 Twist 表达均明显高于阴性对照组( $P<0.05$ ),而 PGDH 表达的明显降低( $P<0.05$ )。**结论:**microRNA-21 可能通过抑制 PGDH 的表达增加 PGE2 的表达,进而激活上皮间质转化,促进卵巢癌转移。

**关键词:**microRNA-21;卵巢癌;转移;侵袭;上皮间质转化

**中图分类号:**R737.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)21-4137-06

## Role and Mechanism of MicroRNA-21 in the Process of Ovarian Cancer Lesion Metastasis\*

LIANG Wan-qi, ZHAO Zong-xia, LI Fen-xia, CHANG Li-hua, YANG Shu-mei<sup>△</sup>

(The Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Department of Obstetrics and Gynecology, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the role and mechanism of microRNA-21 in the metastasis of ovarian cancer. **Methods:** A total of 138 patients with ovarian cancer admitted to our hospital from June 2016 to May 2018 were enrolled. Among them, 63 had colorectal metastasis and 75 had no metastasis. The expression of microRNA-21 in tumor tissues, paracancerous tissues and normal tissues of the two groups was detected by qRT-PCR. The expressions of PGDH, PGE2 and Twist in the tumor tissues of the two groups were detected by Western blot. The expression of microRNA-21 in A2780 cells was up-regulated by transfection over-expression of has-microRNA-21. The ability of cell clone formation was detected by plate cloning assay. Trans-well cell migration assay and invasion assay were used to detect cell migration and invasion. Western blot was used to detect the expression of PGDH, PGE2 and Twist proteins. **Results:** The expression of microRNA-21 in the ovarian cancer metastasis group was higher than that in the non-metastasis group, paracancerous tissues and normal ovarian tissues ( $P<0.05$ ). The expression of PGDH in the ovarian cancer metastasis group was lower than that in the non-metastasis group, but PGE2. Twist expression was higher than that of the non-metastatic group ( $P<0.05$ ). The expression, migration and invasion ability of the microRNA-21 overexpressing A2780 cells were significantly higher than those of the negative control group ( $P<0.05$ ), while the expression of PGDH was significantly decreased ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** microRNA-21 may increase the expression of PGE2 by inhibiting the expression of PGDH, thereby activates the epithelial mesenchymal transition and promotes the ovarian cancer metastasis.

**Key words:** microRNA-21; Ovarian cancer; Metastasis; Invasion; EMT

**Chinese Library Classification (CLC):** R737.31 **Documen code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2019)21-4137-06

### 前言

卵巢癌(renal cell carcinoma, RCC)是一种常见的恶性程度较高的肿瘤,是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一,约占原

发性恶性妇科肿瘤 80%~95%<sup>[1-4]</sup>。因具有多耐药基因等原因,卵巢癌对放化疗均不敏感,发病率和病死率在世界范围内呈升高趋势<sup>[5-7]</sup>。临床上,很多卵巢癌患者确诊时已处于晚期,失去了手术治疗的最好机会,只能采取辅助放化疗,患者总体预后较

\* 基金项目:陕西省科技统筹基金项目(2016KTZDSF01-013-04)

作者简介:梁婉琪(1981-),硕士,主要研究方向:妇科肿瘤, E-mail: 2358857030@qq.com

<sup>△</sup> 通讯作者:杨淑梅(1962-),副主任医师,主要研究方向:妇科肿瘤, E-mail: 2459811378@qq.com, 电话: 18392030303

(收稿日期:2019-02-27 接受日期:2019-03-23)

差。近些年,各项研究结果表明一些 miRNA 在卵巢癌中表达异常<sup>[7-9]</sup>,在卵巢癌发生及发展过程中起抑癌或者促癌的作用<sup>[10]</sup>。有文献报道 microRNA-21 在多种恶性肿瘤组织中均有表达<sup>[11-14]</sup>,在肿瘤细胞凋亡、转移和侵袭过程中发挥重要的作用。在肺癌的发生发展过程中,microRNA-2 可以抑制羟基前列腺素脱氢酶(Hydroxy prostaglandin dehydrogenase,PGDH)的表达<sup>[6]</sup>,但是 microRNA-21 在卵巢癌中的作用,尚不完全明确。

PGDH 是一种抑癌基因,PGDH 是环氧合酶 2(Cyclooxygenase 2,COX2)和前列腺素 E2(Prostaglandin E2, PGE2)促癌信号转导的拮抗剂<sup>[7]</sup>,PGDH 在肿瘤组织中的下调可能是肿瘤组织中 PGE2 表达增强的关键机制之一<sup>[8]</sup>。目前研究结果显示 COX/PGE2 促癌信号可以激活上皮间质转化(Epithelial Mesenchymal Transition,EMT)中的转录因子 Twist<sup>[9]</sup>。因此,本研究采用卵巢癌患者肿瘤组织和卵巢癌细胞系 A2780,探讨了 microRNA-21 是否通过促进 EMT 相关蛋白表达从而对卵巢癌形成转移产生影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 患者来源

本次研究共纳入本院 2016 年 6 月-2018 年 5 月收治的 138 例卵巢癌患者,其中 63 例出现结直肠转移,75 例未发现转移。所有卵巢癌患者均经过病理检验科诊断证实,均未经过任何治疗。实验方法和目的均告知患者和家属,并签署知情同意书,研究获的医院伦理委员会批准。

### 1.2 材料

A2780 细胞购自中科院上海细胞库,过表达载 has-microRNA-21 由上海吉凯提供,蛋白定量试剂盒、SDS 凝胶试剂盒、细胞裂解液、结晶紫均购自武汉碧天根生物有限公司,蛋白酶抑制剂购自罗氏试剂生物有限公司,高糖 DMEM 培养基、优级胎牛血清、胰蛋白酶消化液均购自美国 HyClone,青链霉素混合液、4%多聚甲醛购自北京碧云天有限公司,PGDH、PGE2、Twist 抗体购自英国 Abcam,ECL 化学发光试剂盒购自美国 Advansta,兔二抗购自英国 Abcam,Trans-well 小室购自康宁。

### 1.3 方法

**1.3.1 qRT-PCR** 取患者肿瘤组织液氮冷冻,随后进行碾磨,严格按照产品说明书的步骤进行总 RNA 提取、逆转录和 PCR,取 1  $\mu$ g RNA 反转录成 cDNA。设计 microRNA-21 和  $\beta$ -ACTIN 上下游引物,PCR 循环条件:95 $^{\circ}$ C 30 s 预变性,95 $^{\circ}$ C 5 s,60 $^{\circ}$ C 30 s 共 40 个循环。

**1.3.2 过表达载体 has-microRNA-21 转染 A2780 细胞** A2780 细胞培养于含 10%FBS 和 1%青链霉素的高糖 DMEM 培养液中,置于 37 $^{\circ}$ C/5% CO<sub>2</sub> 的培养箱内。细胞稳定传代 3 次后,接种到 6 孔板中,每孔细胞密度为 4 $\times$  10<sup>5</sup> 个。24 h 后(汇合度约 60%)取去经内毒素提取的 has-microRNA-21 重组载体和 microRNA-NC 空质粒按试剂盒操作说明进行转染,每孔转染试剂 Lipofectamine 2000 5  $\mu$ L,质粒 2.5  $\mu$ g,转染 24 h 后荧光显微镜下观察载体上荧光蛋白表达效果。

**1.3.3 平板克隆形成实验** 对数生长期细胞,胰蛋白酶消化,计数,300 个细胞/2 mL/六孔板,37 $^{\circ}$ C 孵箱培 15 天,显微镜下观察克隆形成数量,结晶紫染色,克隆形成计数。

**1.3.4 Trans-well 细胞迁移实验** 对数生长期细胞,胰蛋白酶消化,计数,无血清 DMEM 培养液 5 $\times$  10<sup>4</sup>/孔,Trans-well 小室下室正常 10% 胎牛血清 DMEM 培养液 600  $\mu$ L,上室 200  $\mu$ L 无血清细胞悬液,接种至 24 孔板。12 h 后 PBS 洗 2 次,4%多聚甲醛固定 15 min,室温风干。0.1%结晶紫染色 15 min,PBS 洗 3 遍,用棉签轻轻擦去上层未迁移的细胞,33%乙酸脱色,570 nm 读数。

**1.3.5 Trans-well 细胞侵袭实验** BD 胶和培养液(1:9)配制,在冰上操作,然后在 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱孵育 5 h,在 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱水化基底膜 30 min。对数生长期细胞,胰蛋白酶消化,计数,无血清 DMEM 培养液 5 $\times$  10<sup>4</sup>/孔,Trans-well 小室下室正常 10% 胎牛血清 DMEM 培养液 600  $\mu$ L,上室 200  $\mu$ L 无血清细胞悬液,接种至 24 孔板。16 h 后 PBS 洗 2 次,4%多聚甲醛固定 15 min,室温风干。0.1%结晶紫染色 15 min,PBS 洗 3 遍,用棉签轻轻擦去上层未迁移的细胞,33%乙酸脱色,570 nm 读数。

**1.3.6 Western blot** 细胞计数以 1 $\times$  10<sup>6</sup> 个细胞/mL 的细胞数种到 6 孔板中,设 3 个复孔。细胞贴壁取出 6 孔板,弃掉上清;PBS 清洗 1 min 后加含有蛋白酶抑制剂的裂解液并吹打细胞团,后放置冰上裂解,30 min 后用细胞刮将细胞刮下来转移至 1.5 mL 试管中,高速离心并抽取上清,即为所提蛋白。取患者肿瘤组织液氮冷冻,随后进行碾磨,裂解液裂解,低温离心取上清,即为组织蛋白。蛋白定量完成后加上样缓冲液,沸水煮 5 min,样品可冻于 -80 $^{\circ}$ C 保存。SDS-PAGE 电泳后进行转膜操作,转膜成功后用脱脂牛奶进行封闭,PBST 清洗,裁剪条带并分别加入相应抗体,均为 1:1000 稀释,室温孵育 1 小时后 4 $^{\circ}$ C 过夜。次日反复清洗条带,加二抗室温孵育 90 min,PBS 反复冲洗,然后加 ECL 发光液,化学发光仪检测并拍照。

### 1.4 统计学分析

所有数据应用 SPSS 17.0 软件进行统计,计量资料均以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较用 t 检验,以  $P < 0.05$  为具有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 卵巢癌转移和未转移组肿瘤组织 microRNA-21、PGDH、PGE2 和 Twist 表达

卵巢癌转移组患者肿瘤组织中 microRNA-21 表达显著高于未转移组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )图 1A;卵巢癌转移组患者肿瘤组织中 microRNA-21 的表达明显高于未转移组、癌旁组织和正常组织,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )图 1B;未转移组肿瘤组织中 microRNA-21 表达和癌旁组织以及正常组织中差异无统计学意义, ( $P > 0.05$ )图 1C;转移组肿瘤组织中 PGDH 表达低于未转移组,而 PGE2、Twist 表达高于未转移组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 1D。

### 2.2 microRNA-21 过表达对 A2780 细胞平板克隆形成能力的影响

首先 qRT-PCR 检测 has-microRNA-21 的转染效率,结果显示 has-microRNA-21 转染后 A2780 细胞 RNA-21 表达显著高于 microRNA-NC-A2780 细胞( $P < 0.05$ ),提示 A2780 细胞成功过表达 microRNA-21,见图 2A。

随后平板克隆形成实验结果显示:转染 has-microRNA-21

上调 A2780 细胞中 microRNA-21 的表达后, 细胞克隆形成能力明显强于 microRNA-NC-A2780 细胞 ( $P<0.05$ ), 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ ) 图 2B。

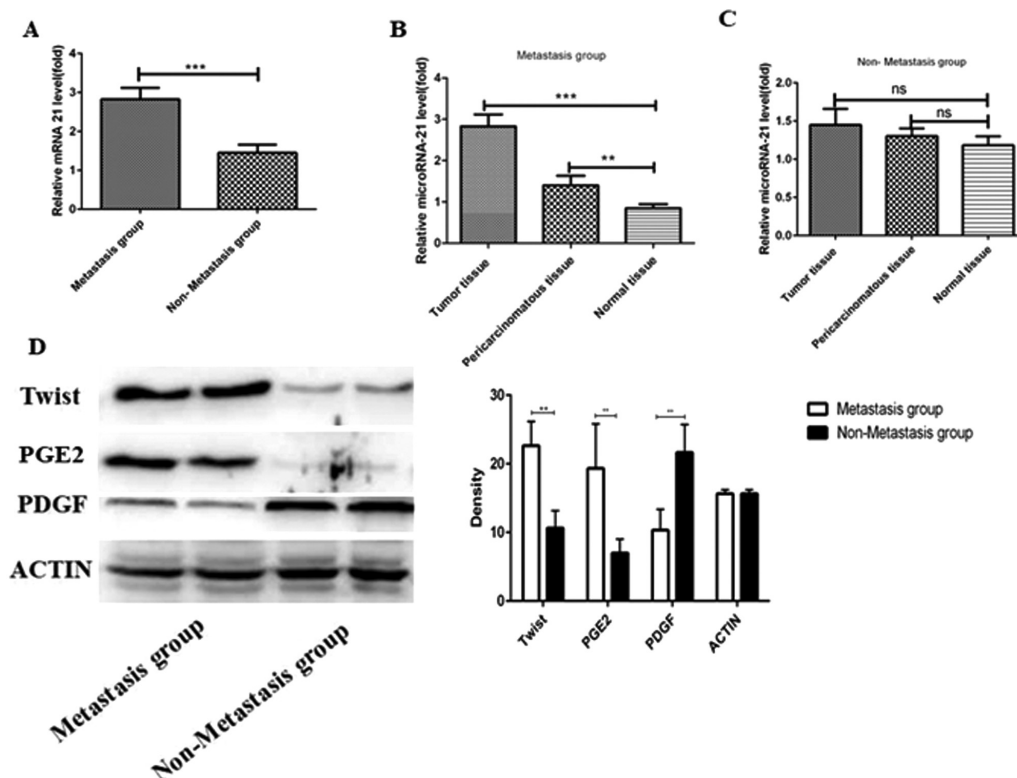


图 1 A: microRNA-21 在卵巢癌患者肿瘤组织中的表达; B: microRNA-21 在转移组肿瘤组织、癌旁组织和正常组织中的表达; C: microRNA-21 在未转移组肿瘤组织、癌旁组织和正常组织中的表达; D: PGDH、PGE2 和 Twist 卵巢癌患者肿瘤组织中的表达

Fig.1 A: MicroRNA-21 expression in tumor tissues of ovarian cancer patients B: expression of microRNA-21 in metastatic tumor tissues, paracarcinomatous tissues and normal tissues; C: microRNA-21 in non-metastasis tumor tissues, cancer Expression in para-tissue and normal tissues; D: expression in tumor tissues of patients with PGDH, PGE2 and Twist ovarian cancer

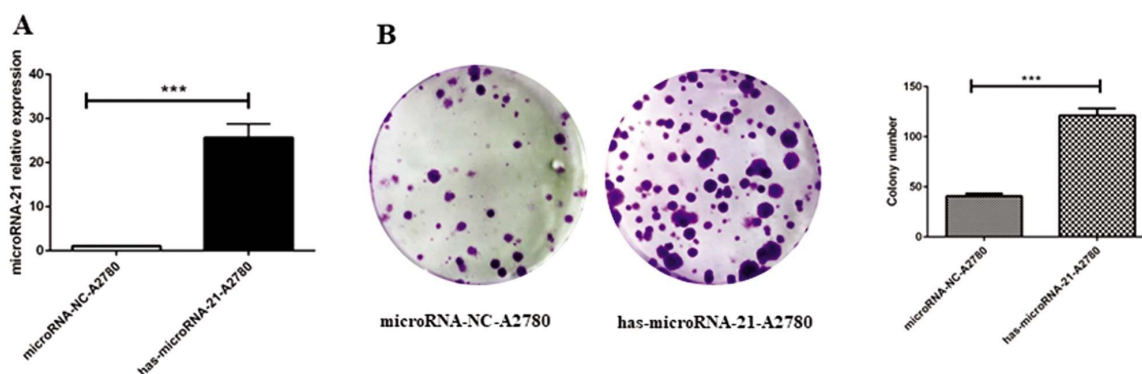


图 2 A: has-microRNA-21 转染后 A2780 细胞 RNA-21 表达; B: has-microRNA-21 表达上调对 A2780 细胞克隆形成能力的影响

Fig.2 A: RNA-21 expression in A2780 cells after trans-microRNA-21 transfection; B: Effect of up-regulation of has-microRNA-21 on the ability of A2780 cell clone formation

### 2.3 microRNA-21 过表达对 A2780 细胞迁移能力的影响

Trans-well 迁移实验结果显示: 转染 has-microRNA-21 上调 A2780 细胞中 microRNA-21 的表达后, 细胞迁移能力明显强于 microRNA-NC-A2780 细胞 ( $P<0.05$ )。

### 2.4 microRNA-21 过表达对 A2780 细胞侵袭能力影响

Trans-well 侵袭实验结果显示: 转染 has-microRNA-21 上调 A2780 细胞中 microRNA-21 的表达后, 细胞迁移能力明显强于 microRNA-NC-A2780 细胞 ( $P<0.05$ )。

### 2.5 microRNA-21 过表达后对 A2780 细胞 PGDH、PGE2、Twist 表达的影响

Western blot 检测结果显示在 A2780 细胞过表达 microRNA-21 后, PGDH 表达显著降低而 PGE2、Twist 表达明显增高 ( $P<0.05$ )。

## 3 讨论

卵巢癌是女性生殖器官常见的恶性肿瘤之一, 发病率仅次于子宫颈癌和子宫体癌, 死亡率居各类妇科肿瘤的首位, 严重威胁女性健康<sup>[5,8]</sup>。由于卵巢深居盆腔, 体积小, 缺乏典型症状, 早期难以发现。卵巢癌患者肿瘤局限于卵巢仅占不足 30%, 大多数已扩散到盆腹腔器官, 治疗存在困难。

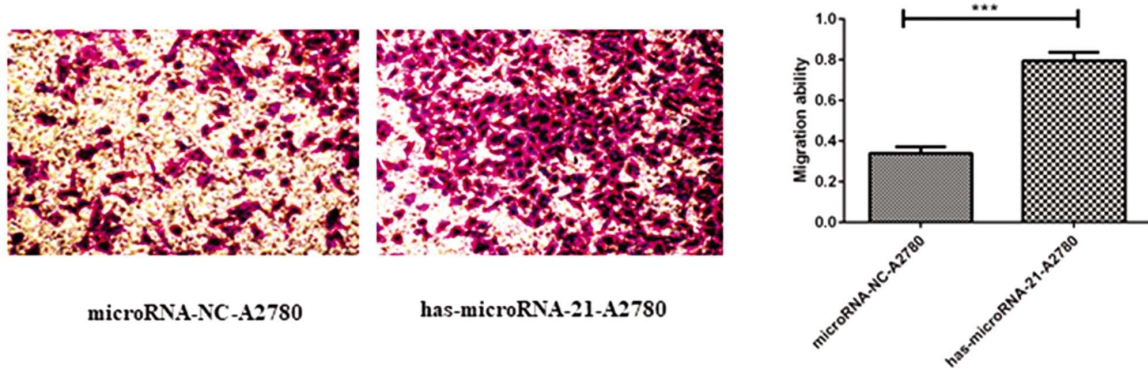


图3 has-microRNA-21 表达上调对 A2780 细胞迁移能力的影响

Fig.3 Effect of up-regulation of has-microRNA-21 expression on the migration ability of A2780 cells

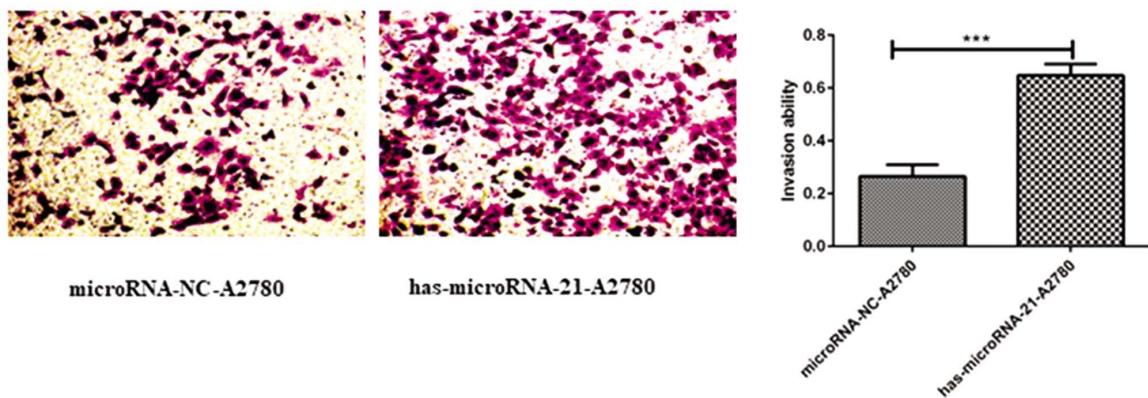


图4 has-microRNA-21 表达上调对 A2780 细胞侵袭能力的影响

Fig.4 Effect of up-regulation of has-microRNA-21 expression on the invasive ability of A2780 cells

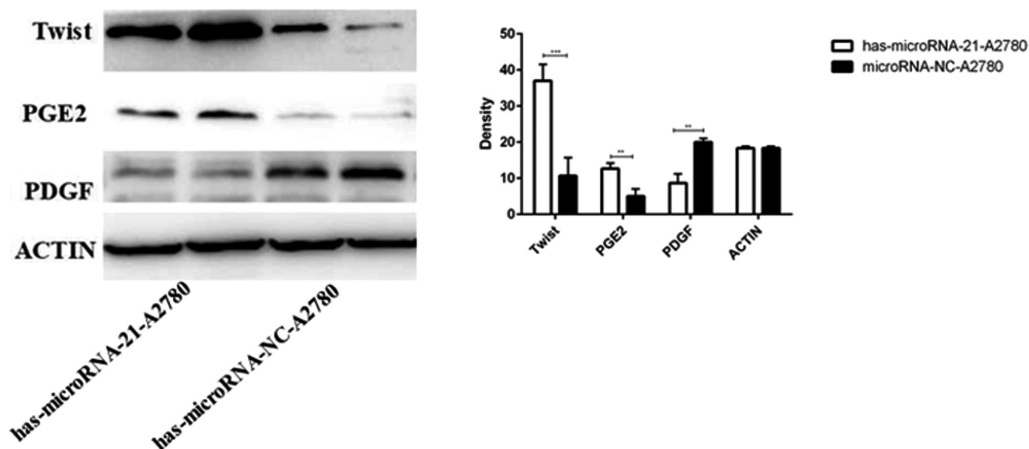


图5 microRNA-21 过表达对 A2780 细胞 PGDH、PGE2、Twist 表达的影响

Fig.5 Effect of microRNA-21 overexpression on the PGDH, PGE2, Twist expression in the A2780 cells

microRNA 是一种内源性非编码小分子 RNA,通过与靶基因信使 RNA 的 3' 非翻译区(Untranslated Regions, UTR)特异性结合<sup>[20-23]</sup>致使 RNA 降解活翻译抑制,从而在转录后水平调节基因表达。研究表明 microRNA 参与调控肿瘤的启动、进展和转移过程。一些 microRNA 在卵巢癌中的表达异常,在卵巢癌的发生及发展过程中起抑癌或者促癌作用<sup>[15-19]</sup>。microRNA-21 是目前研究较为广泛的一种 microRNA, 几乎表达在人类所有恶性肿瘤组织中,最初发现在脑肿瘤中异常表达<sup>[24-27]</sup>。有研究发现 microRNA-21 过表达可促进肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[28]</sup>。此外,microRNA-21 参与癌细胞的表型特性,如细胞增殖、细胞凋亡和细胞周期,并在基因产物的表达中发挥至关重要的作

用。在肺癌的相关研究中,microRNA-21 对抑癌基因 PGDH 起抑制作用。PGDH 作为一种抑癌基因存在组织和细胞中,PGDH 是 COX/PGE2 促癌信号转导的生理拮抗剂组织中的下调可能是肿瘤组织中 PGE2 表达增强的关键机制之一<sup>[29]</sup>,而 COX/PGE2 促癌信号可以激活 EMT 中的转录因子 Twist。

EMT 是肿瘤转移和形成远端病灶的主要原因<sup>[30]</sup>。E- 钙黏蛋白(E-cadherin)是上皮细胞的主要黏附分子之一,肿瘤发生 EMT 时其表达量显著降低。E-cadherin 介导的细胞黏附结构丧失,使肿瘤细胞获得能动性,因而被认为是肿瘤进展中的关键步骤。EMT 相关的标志转录因子还包括 twist 和 PGE 等,其均可抑制 E-cadherin 的表达。E-cadherin 可以使肿瘤细胞之间的

相互作用和极性丧失,从而让肿瘤细胞获得侵袭和迁移的能力,同时使得波形蛋白、纤维蛋白和 N- 钙粘蛋白(N-cadherin)在内的间充质分子标记的表达增加。越来越多的研究证明 microRNA 可通过调控上皮-间质转化在肿瘤转移的过程中发挥重要作用,包括 microRNA-200、microRNA-21、microRNA-141 和 microRNA-429 等。microRNA-21 家族直接靶向 PGE1 和 PGE2 降低 E-cadherin 表达,可促进 EMT 过程和肿瘤进展。另外,PGE 可负性调节 microRNA-200 家族转录,这种相互作用构成 miR-21 家族与 PGE1/PGE2 之间的双重负反馈调节环。除了 miR-200 家族外,其他 microRNAs 也参与调节 PGE1 和 PGE2 的表达,从而促进 EMT 和肿瘤转移。例如,miR-23b 直接靶向 PGE2 促进多种肿瘤的侵袭和转移。Twist 是一种基本的螺旋-环-螺旋转录因子,通过直接抑 E-cadherin 等上皮标志物的表达促进 EMT 过程及肿瘤的侵袭和转移能力。最近的几项研究表明 Twist 可以被 microRNA 负调控。有研究发现 microRNA-138 在结直肠癌中的表达下降,通过直接与 Twist 结合导致癌细胞迁移和侵袭能力的显著抑制。此外,miR-675 通过负性调控 Twist 表达来抑制癌症转移。有研究证明 microRNA-21 通过下调 N-cadherin 诱导人 p120 ctn 连环蛋白基因 (Human p120 ctn Catenin Gene, CTNND1) 和 E-cadherin 从细胞质转移至细胞膜来抑制胃癌细胞的侵袭,microRNA-21 通过抑制 N-cadherin 翻译间接下调其下游效应基质金属蛋白酶 9 (Matrix Metalloproteinase 9, MMP9),从而抑制胃癌转移。所有这些研究表明 microRNAs 在 EMT 发生发展过程中起重要的作用。但 microRNA-21 对卵巢癌转移的影响及对卵巢癌细胞发生 EMT 时其标志蛋白 PGDH、PGE2 和 Twist 的表达的影响尚不完全明确。

本研究结果显示 microRNA-21 高表达在卵巢癌转移组患者肿瘤组织及其癌旁组织中,提示卵巢癌转移并在结肠形成转移病灶与 microRNA-21 表达有着密切的关系。而 microRNA-21 表达高的肿瘤组织中 PGDH 表达降低,PGE2、Twist 表达增高,说明 microRNA-21 很可能抑制 PGDH 的表达而促进 PGE2、Twist 表达。体外细胞实验表明 microRNA-21 过表达后促进了 A2780 细胞的克隆形成能力、细胞迁移和侵袭的能力,与肿瘤组织检测结果一致,说明 microRNA-21 促进了卵巢癌的转移和形成远端病灶的能力。此外,A2780 过表达 microRNA-21 细胞 PGDH 表达被抑制,PGE2、Twist 表达明显增加,进一步提示 microRNA-21 很可能通过抑制 PGDH 表达促进 PGE2 表达,进一步上调 EMT 的标志蛋白 Twist 表达,激活 EMT 发生从而增强卵巢癌的增殖、转移和形成远端病灶。

综上所述,microRNA-21 可能通过抑制 PGDH 表达调控促进 PGE2 表达激活了卵巢癌 EMT,从而促进卵巢癌形成转移病灶。而卵巢癌患者体内 microRNA-21 来源何处,其上游调控因子在卵巢癌的发生发展中又起到怎么样的作用均有待于进一步的研究证实。

#### 参考文献(References)

- [1] Wolfram D, Tzankov A, Püzl P, et al. Hypertrophic scars and keloids-a review of their pathophysiology, risk factors, and therapeutic management[J]. *Dermatol Surg*, 2015, 35(12): 171-181
- [2] Karagoz H, Bayram Y, Sever C, et al. A review of the prevention and treatment of hypertrophic scars: Part II experimental studies [J]. *Arch Clin Exp Surg*, 2015, 2(56): 49-58
- [3] Backes C, Keller A. Reanalysis of 3, 707 novel human microRNA candidates[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(21): E2849-E2850
- [4] Albiges L, Oudard S, Negrier S, et al. Completeremission with tyrosine kinase inhibitors in renal cell carcinoma[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 30(5): 482-487
- [5] Bouyssou JM, Manier S, Huynh D, et al. Regulation of microRNAs in cancer metastasis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1845 (48): 255-265
- [6] Lei W, Li G, Zheng J, et al. Roles of microRNA-21 in vascular diseases in cardiac and pulmonary systems [J]. *Pharmazie*, 2015, 69(29): 643-647
- [7] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method [J]. *Methods*, 2014, 25(32): 402-408
- [8] Mattes J, Yang M, Foster PS. Regulation of microRNA-21 by antagonists: A new class of pharmacological antagonists for the specific regulation of gene function [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 36 (14): 8-12
- [9] Liu G, Friggeri A, Yang Y, et al. miR-21 mediates fibrogenic activation of pulmonary fibroblasts and lung fibrosis [J]. *J Exp Med*, 2015, 207 (31): 1589-1597
- [10] 郭辉, 张斌, 胡利民, 等. 微小 RNA-145 靶向调控 SOX11 表达及其对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2018, 23 (3): 200-205
- [11] Nishikawa M, Miyake H, Harada K, et al. Expression level of phosphorylated-4E-binding protein 1 in radical nephrectomy specimens as a prognostic predictor in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with mammalian target of rapamycin inhibitors [J]. *Med Oncol*, 2015, 31(1): 792
- [12] She QB, Halilovic E, Ye Q, et al. 4E-BP1 is a key effector of the oncogenic activation of the AKT and ERK signaling pathways that integrates their function in tumors[J]. *Cancer Cell*, 2016, 18(1): 39-51
- [13] 曾华魁, 简艳军, 高霖, 等. Ox-LDL 对 THP-1 巨噬细胞迁移功能、microRNA21 表达及 MAPK 通道磷酸化的影响[J]. *心血管康复医学杂志*, 2018, 27(03): 241-246
- [14] 童佳兵, 张星星, 李泽庚, 等. 芪玉三龙汤调节 microRNA21 及 PTEN 的表达抑制肺癌肿瘤生长[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(05): 1585-1589
- [15] 姜亮亮, 王晶. 上皮性卵巢癌远处转移的诊治进展[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2018, 12(05): 480-482
- [16] 杨芳芳, 杨清. 卵巢癌组织 BRCA1 转录调节: 启动子位点 1-2 高甲基化介导的组蛋白修饰 H3K9ac 富集丢失[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 14(23): 3731-3734
- [17] 朱宏明, 尹丽, 何侠. Notch 信号通路介导 EMT 与肿瘤侵袭转移的研究进展[J]. *肿瘤学杂志*, 2018, 12(08): 808-812
- [18] 郭艳平, 武磊, 张兵, 等. DNMT1 在卵巢癌组织中的表达及其对卵巢癌细胞增殖和迁移的影响 [J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 21(24): 3885-3889
- [19] 葛燕. microRNA-29 对人腹膜间皮细胞间充质转分化的影响及机制研究[D]. 中南大学, 2012, 133
- [20] 学峰, 乌新林. 癌相关成纤维细胞与 EMT 关系的研究进展 [J]. 内

蒙古医科大学学报, 2018, 17(04): 417-422

- [21] Zhang LN, Kong CF, Zhao D, et al. Fusion with mesenchymal stem cells differentially affects tumorigenic and metastatic abilities of lung cancer cells[J]. J Cell Physiol, 2018, 9(12): 23-25
- [22] Levin G, Coelho T M, Nobrega N G, et al. Spatio-temporal expression profile of matrix metalloproteinase (Mmp) modulators Reck and Sparc during the rat ovarian dynamics [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2018, 16(1): 116
- [23] Komiyama S, Nagashima M, Taniguchi T, et al. Ovarian Clear Cell Carcinoma Detected During Long-Term Management of Endometriotic Cysts in Young Patients: Possible Heterogeneity of this Tumor[J]. Gynecol Obstet Invest, 2018, 18(2): 1-8
- [24] Schouli J, Braicu E I, Richter R, et al. Prognostic significance of Ki-67 levels and hormone receptor expression in low-grade serous ovarian carcinoma: an investigation of the tumor bank ovarian cancer network[J]. Hum Pathol, 2018, 26(1): 116-118
- [25] Lew R. Natural history of ovarian function including assessment of ovarian reserve and premature ovarian failure [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2018, 17(2): 23-26
- [26] Boulsourani Z, Geromichalos G D, Katsamakas S, et al. Mononuclear copper (II) complexes with 2-thiophene carboxylate and N-N donors; DNA interaction, antioxidant/anti-inflammatory and antitumor activity [J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2019, 14(94): 493-508
- [27] Sanchez-Iglesias J L, Perez-Benavente A, Correa-Paris A, et al. Impact of Laparoscopy to Assess Resectability in Stage IIIC Epithelial Ovarian, Tubal and Peritoneal Cancer Patients[J]. Gynecol Obstet Invest, 2018, 21(4): 1-9
- [28] Kuhlmann J D, Chebouti I, Kimmig R, et al. Extracellular vesicle-associated miRNAs in ovarian cancer - design of an integrated NGS-based workflow for the identification of blood-based biomarkers for platinum-resistance[J]. Clin Chem Lab Med, 2018, 15(6): 11-19
- [29] Wang F, Zhao X, Tan W, et al. Early identification of recurrence in ovarian cancer: a comparison between the ovarian cancer metastasis index and CA-125 levels[J]. PeerJ, 2018, 6: e5912
- [30] Lin K K, Harrell M I, Oza A M, et al. BRCA Reversion Mutations in Circulating Tumor DNA Predict Primary and Acquired Resistance to the PARP Inhibitor Rucaparib in High-Grade Ovarian Carcinoma[J]. Cancer Discov, 2018, 15(16): 21-25
- [31] Heitz F, Harter P, du Bois A. ASO Author Reflections: Systematic Lymph Node Dissection in Ovarian Cancer Under Attack [J]. Ann Surg Oncol, 2018, 31(26): 32-34

(上接第 4091 页)

- [20] Gandara D R, Leighl N, Delord J P, et al. A Phase 1/1b Study Evaluating Trametinib Plus Docetaxel or Pemetrexed in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Journal of Thoracic Oncology, 2017, 12(3): 556-566
- [21] Nokihara H, Lu S, Mok T, et al. Randomized controlled trial of S-1 versus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-based chemotherapy (East Asia S-1 Trial in Lung Cancer)[J]. Annals of Oncology, 2017, 28(11): 2698-2706
- [22] Jiang S, Liu Z, Lei W, et al. Tumor targeting with docosahexaenoic acid-conjugated docetaxel for inhibiting lung cancer metastasis to bone[J]. Oncology Letters, 2018, 16(3): 2911-2920
- [23] Cascone T, Gold K A, Swisher S G, et al. Induction Cisplatin Docetaxel Followed by Surgery and Erlotinib in Non-Small Cell Lung Cancer[J]. Annals of Thoracic Surgery, 2018, 105(2): 418-424
- [24] Xiong S Q, Zou X L, Zheng Q, et al. Effects of ShenFu Injection on Peripheral Neurotoxicity of Paclitaxel [J]. Journal of Sichuan University, 2018, 49(1): 44-47+64
- [25] Mao Z J, Zhang Q L, Shang J, et al. Shenfu Injection attenuates rat myocardial hypertrophy by up-regulating miR-19a-3p expression[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 4660
- [26] Zarogoulidis P, Chinelis P, Athanasiadou A, et al. Possible adverse effects of immunotherapy in non-small cell lung cancer; treatment and follow-up of three cases [J]. Respir Med Case Rep, 2017, 22(C): 101-105
- [27] Atkins G T, Kim T, Munson J. Residence in Rural Areas of the United States and Lung Cancer Mortality. Disease Incidence, Treatment Disparities, and Stage-Specific Survival[J]. Annals of the American Thoracic Society, 2017, 14(3): 403-411
- [28] Pakkala S, Ramalingam S S. Epidermal Growth Factor Receptor Mutated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: A Changing Treatment Paradigm[J]. Hematol Oncol Clin North Am, 2017, 31(1): 83-99
- [29] Guo Z, Niu D, Yu Y, et al. Effects of hydration combined with Shenfu injection on contrast-induced acute kidney injury in acute coronary syndrome patients undergoing percutaneous coronary intervention[J]. Biomed Rep, 2017: 7(5): 477-481
- [30] Qian L I, Zhou T, Guan H J, et al. Cost-effectiveness analysis of Shenfu injection combined with conventional therapy in treating heart failure[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2017, 26(14): 1718-1724