

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.21.002

文章编号: 1005-8982 (2019) 21-0007-07

siRNA 沉默肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 2 表达 对胶质瘤细胞侵袭及增殖的影响 *

程哲, 巢青, 王大巍, 束汉生

(蚌埠医学院第二附属医院 神经外科, 安徽 蚌埠 233000)

摘要:目的 探讨沉默肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 2 (TNFAIP2) 表达对胶质瘤细胞侵袭及增殖的影响。**方法** 使用 Lipofectamine 2000 介导 siRNA 转染胶质瘤细胞 U87 和 U251 下调 TNFAIP2 mRNA 的表达; 运用细胞划痕及 Transwell 实验检测沉默 TNFAIP2 表达对 U87 及 U251 细胞迁移、侵袭的影响; 通过 CCK-8 实验检测沉默 TNFAIP2 表达对胶质瘤细胞 U87 及 U251 增殖的影响。**结果** Lipofectamine 2000 介导 si-TNFAIP2 转染 U87 及 U251 细胞可下调 TNFAIP2 mRNA 的表达; 沉默 TNFAIP2 表达可降低胶质瘤细胞 U87 和 U251 迁移侵袭的能力; 沉默 TNFAIP2 表达可抑制 U87 及 U251 细胞的增殖。**结论** siRNA 沉默 TNFAIP2 表达可抑制胶质瘤细胞的侵袭和增殖。

关键词: 神经胶质瘤; 肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 2; 迁移; 侵袭; 增殖

中图分类号: R739.41

文献标识码: A

Effect of siRNA silencing TNFAIP2 expression on invasion and proliferation of glioma cells*

Zhe Cheng, Qing Chao, Da-wei Wang, Han-sheng Shu

(Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui 233000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of silencing TNFAIP2 (Tumor Necrosis Factor Alpha Induced Protein 2) expression on the invasion and proliferation ability of glioma cells. **Methods** Lipofectamine 2000 mediated siRNA transfecting U87 and U251 cells was used to silence the expression of TNFAIP2; and the effect of silencing TNFAIP2 expression on the migration, invasion and proliferation of U87 and U251 cells were detected by cell scratch and Transwell assay; the effect of silencing TNFAIP2 expression on proliferation of U87 and U251 glioma cells were measured by CCK-8 cell proliferation assay. **Results** U87 and U251 cells transfected by Lipofectamine 2000 mediated si-TNFAIP2 could significantly down-regulate the expression of TNFAIP2; Silencing TNFAIP2 expression significantly reduced the ability of migration and invasion of glioma cells U87 and U251; silencing the expression of TNFAIP2 could significantly inhibit the invasion and proliferation of U87 and U251 cells. **Conclusions** Silencing TNFAIP2 expression by SiRNA can effectively inhibit the invasion and proliferation of glioma cells.

Keywords: glioma; TNFAIP2 protein; migration; invasion; proliferation

神经胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤, 具有高病死率、致残率和复发率, 其总体生存率和

收稿日期: 2019-04-25

* 基金项目: 蚌埠医学院自然科学基金面上项目 (No: BYKY17114)

[通信作者] 束汉生, E-mail: shuhansheng1968@163.com; Tel: 13955282880

预后极差^[1-2]。肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 2 (tumor necrosis factor alpha induced protein 2, TNFAIP2) 广泛调控各项肿瘤的发生、发展。研究发现 TNFAIP2 rs8126 单核苷酸多态性基因变异成为人类食管鳞状细胞癌易感因素^[3]; TNFAIP2 可以直接靶向调节 KLF5 从而促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭^[4]; 鼻咽癌中 TNFAIP2 是一种促进细胞迁移的蛋白质, 其表达可作为远处转移的生物标志物^[5]。TNFAIP2 在肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭等方面发挥重要作用, 可能成为肿瘤诊断的生物标志物和治疗靶点。前期研究发现 TNFAIP2 在胶质瘤细胞及组织标本中表达上调^[6], 然而其对胶质瘤细胞的生物学功能的影响未见报道, 本实验采用 siRNA 技术沉默胶质瘤细胞 U87 和 U251 中 TNFAIP2 的表达, 探讨 TNFAIP2 对胶质瘤细胞增殖及侵袭功能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

人脑胶质瘤细胞株 U87、U251、U373 和 A172, 正常人脑星形细胞株 1800 购自中国科学院上海细胞库, SHG44 为苏州大学附属医院脑神经研究所惠赠。细胞培养液 DMEM 和 RPMI 1640 购自美国 Thermo 公司, 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自美国 Gibco 公司, TNFAIP2 及 GAPDH 引物和 Custom Real-Time PCR Gene Detection Assay 由上海吉玛制药技术有限公司合成, Lipofectamine 2000、Trizol 均购自美国 ABI 公司, CCK-8 购自上海碧云天生物技术有限公司, Matrigel 胶购自美国 BD 公司, 4% 多聚甲醛、DEPC 水购自北京索莱宝公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 胶质瘤细胞 U87、U373、U251、A172 和 SHG44 分别用含 10% 的 FBS 的 DMEM 或 RPMI 1640 培养基中, 于 37℃ 含 5% 二氧化碳 CO₂ 的培养箱连续培养, 每 2 ~ 3 天换液, 以 0.25% 胰酶 +0.02% 乙二胺四乙酸消化传代培养, 使细胞维持对数生长。

1.2.2 细胞转染和分组 将处于对数生长期的细胞计数 $4 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ 接种在 24 孔板上, 细胞汇合达到 30% ~ 50%。A 液: 在 50 μ l 的 DMEM 无血清培养基加入 1.25 μ l 20 μ mol/L si-RNA (si-TNFAIP2) 轻轻摇匀, 室温放置 5 min; B 液: 用 50 μ l 无血清的 DMEM 稀释 1 μ l Lipofectamine 2000 试剂, 摇匀室温放置 5 min; 将 A 液与 B 液混合摇匀, 室温放

置 20 min; 将 100 μ l A、B 混合液加到含 400 μ l 培养基的培养板孔中, 轻轻摇匀; 在 37℃、5% CO₂ 培养箱中温育 4 ~ 6 h 后更换新鲜培养基, 细胞继续培养 24 ~ 96 h 后用于实验。实验分为空白对照组 (MOCK 组) 不予特殊处理、阴性对照组转染无意义序列 (si-NC 组) 和实验组转染干扰 RNA 小分子 (si-TNFAIP2 组)。TNFAIP2 小分子干扰 RNA (si-TNFAIP2) 由 Gene Pharma 公司合成, si-TNFAIP2 正向: 5'-CAUCAGAGGCAGAGUCAGA-3', 反向: 5'-UCUGACUCUGCCUCUGAUG-3'

1.2.3 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测 TNFAIP2 mRNA 在多株胶质瘤细胞中的表达及在稳转后 U87 和 U251 细胞中的表达 提取细胞总 RNA, 测定 RNA 浓度。根据试剂盒中步骤: 在每个反应中加入 2.0 μ g RNA, 70℃ 温浴 3 min, 取出后冷却至室温, 加 0.5 μ l 逆转录酶后置于 37℃ 水浴 60 min。20 μ l 反应体系中含 2 μ l cDNA, 在 Roche Light Cycler 480 仪器上进行 45 个循环反应, 按照 95℃ 预变性 10 min, 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 10 s。设 3 个重复组, 结果以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值计算。TNFAIP2 及 GAPDH 的引物如下: TNFAIP2 正向, 5'-CCTGCTCTCCCTACGC-3', 反向, 5'-CGTCCAAGATGCTCCG-3'; GAPDH 正向, 5'-AACGGATTTGGTCTATTG-3', 反向, 5'-GGAAGATGCTGATGGGATT-3', 以 GAPDH 的 mRNA 表达水平作为内参。

1.2.4 细胞划痕检测 U87、U251 细胞迁移能力 取转染后对数生长期 U251 和 U87 细胞, 用 20 μ l 无菌移液枪枪头垂直培养板划出贯穿培养孔的划痕作为 0 h 细胞迁移状态。在培养板各孔添加正常含血清培养基常规培养 24 h 后再次拍照记录。采用 Image J2X 软件计算划痕面积灰度值, 划痕愈合率 = (0 h 划痕面积 - 24 h 划痕面积) / 0 h 划痕面积 \times 100%。

1.2.5 Transwell 检测 U87、U251 细胞侵袭能力 Matrigel 胶与培养基按 1 : 6 比例稀释以 40 μ l 每孔铺于 Transwell 小室, 37℃ 0.5 h; 将转染后的 U87 和 U251 细胞以 1×10^5 个 / 孔接种于 Transwell 小室上层, 在含 5% CO₂ 的培养箱 37℃ 环境下连续培养 48 ~ 72 h 后, 擦净小室上层内细胞, 经苏木精固定 30 min 后再用 1% 结晶紫染色 1 min, 显微镜下随机选取 6 个视野拍照, 采用 Image J 2X 软件对小室下层细胞计数取均值。

1.2.6 CCK-8 实验检测 U87、U251 细胞增殖能力

将稳定转染的 U87 及 U251 细胞 (2×10^3 个/孔) 分别接种于 96 孔板中, 在转染后的 24、48 及 72 h 后再向每孔加入 $10 \mu\text{l}$ CCK-8 试剂, 在 5% CO_2 、 37°C 培养箱下培养 4 h, 在 450 nm 波长处测量吸光度值。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 及 GraphPad Prism 4.0 统计软件, 计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 进一步两两比较采用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

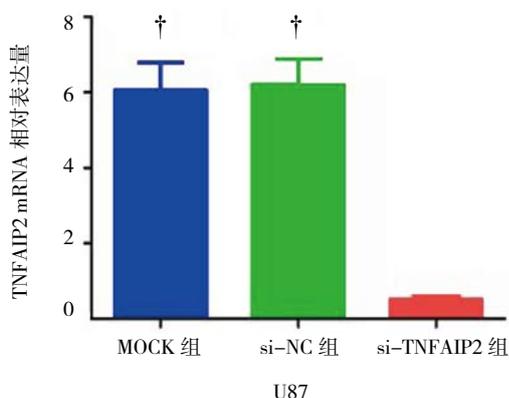
2 结果

2.1 TNFAIP2 mRNA 在胶质瘤细胞中高表达

不同细胞中 TNFAIP2 mRNA 相对表达水平: 正常人脑星形细胞 1800 (1.86 ± 0.25)、U87 (5.76 ± 0.47)、U251 (4.98 ± 0.34)、U373 (6.35 ± 0.52)、A172 (5.81 ± 0.46)、SHG44 (5.53 ± 0.32), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 47.072$, $P = 0.000$); 进一步两两比较, 经 LSD- t 检验, U87、U251、A172、U373 和 SHG44 细胞中 TNFAIP2 mRNA 的表达高于正常人脑星形细胞 1800 ($P < 0.05$)。见图 1。

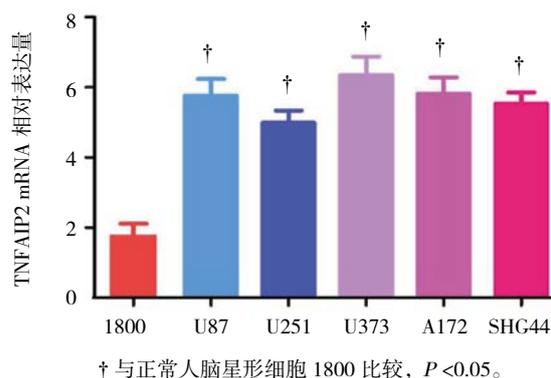
2.2 siRNA 沉默 U87、U251 细胞中 TNFAIP2 mRNA 的表达

U87 细胞转染后各组 TNFAIP2 mRNA 的表达: si-TNFAIP2 组 (0.51 ± 0.06)、si-NC 组 (6.20 ± 0.40)、MOCK 组 (6.05 ± 0.43), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 91.054$, $P = 0.000$); 进一步两两比较, 经 LSD- t 检验, si-TNFAIP2 组 TNFAIP2 mRNA 表达低于 si-NC 组、MOCK 组 ($P < 0.05$)。见图 2。



† 与 si-TNFAIP2 组比较, $P < 0.05$ 。

图 2 U87、U251 细胞中 TNFAIP2 mRNA 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)



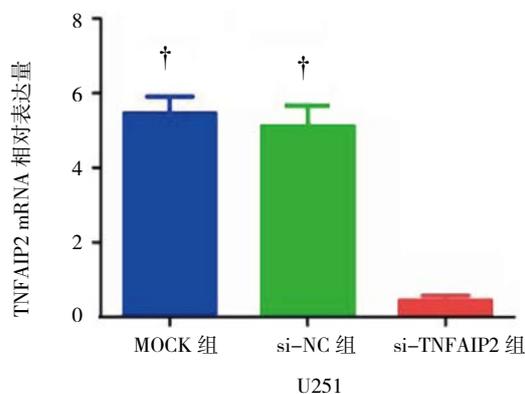
† 与正常人脑星形细胞 1800 比较, $P < 0.05$ 。

图 1 TNFAIP2 mRNA 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

U251 细胞转染后 TNFAIP2 mRNA 的表达, si-TNFAIP2 组 (0.45 ± 0.07)、si-NC 组 (5.13 ± 0.31)、MOCK 组 (5.46 ± 0.26), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 142.408$, $P = 0.000$)。进一步两两比较, 经 LSD- t 检验, si-TNFAIP2 组 TNFAIP2 mRNA 表达低于 si-NC 组和 MOCK 组 ($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 沉默 TNFAIP2 表达抑制 U87、U251 细胞迁移

U87 细胞迁移率: si-TNFAIP2 组 (19.70 ± 0.95)%、MOCK 组 (50.16 ± 2.54)%、si-NC 组 (45.01 ± 2.32)%, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 62.661$, $P = 0.000$); 进一步行 LSD- t 检验发现 si-TNFAIP2 组抑制 U87 细胞的迁移能力比 MOCK 组、si-NC 组更强 ($P < 0.05$)。U251 细胞迁移率: si-TNFAIP2 组 (17.68 ± 1.75)%、MOCK 组 (44.56 ± 2.12)%、si-NC 组 (50.26 ± 3.16)%, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 51.631$, $P = 0.000$); 进一步行 LSD- t 检验, si-TNFAIP2 组抑制 U251 细胞迁移能力比 MOCK 组、si-NC 组更强 ($P < 0.05$)。沉默 TNFAIP2 表达抑制 U87、U251 细胞迁移见图 3、4。



† 与 si-TNFAIP2 组比较, $P < 0.05$ 。

图 2 U87、U251 细胞中 TNFAIP2 mRNA 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

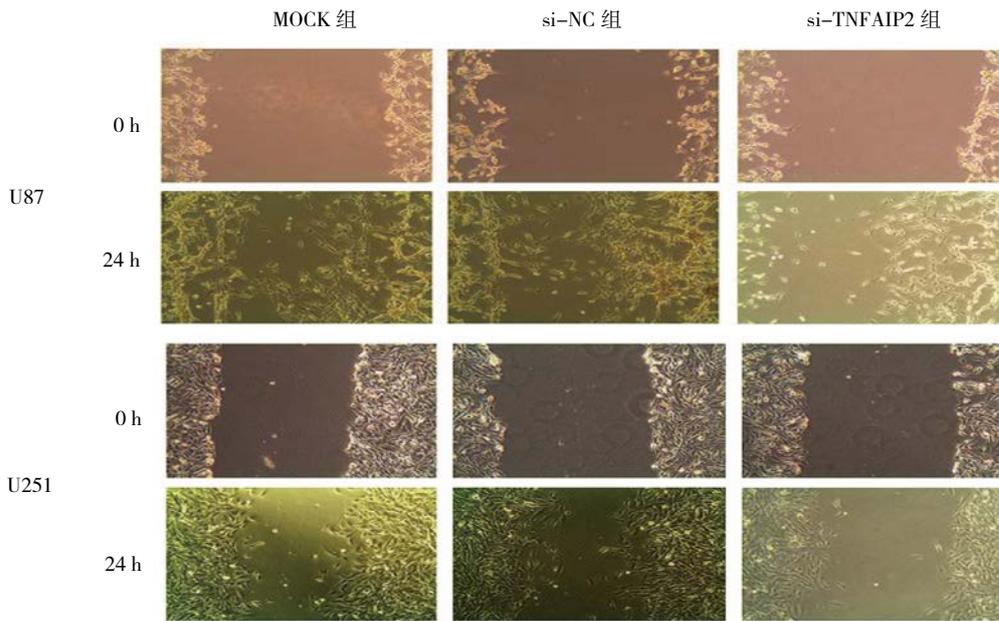
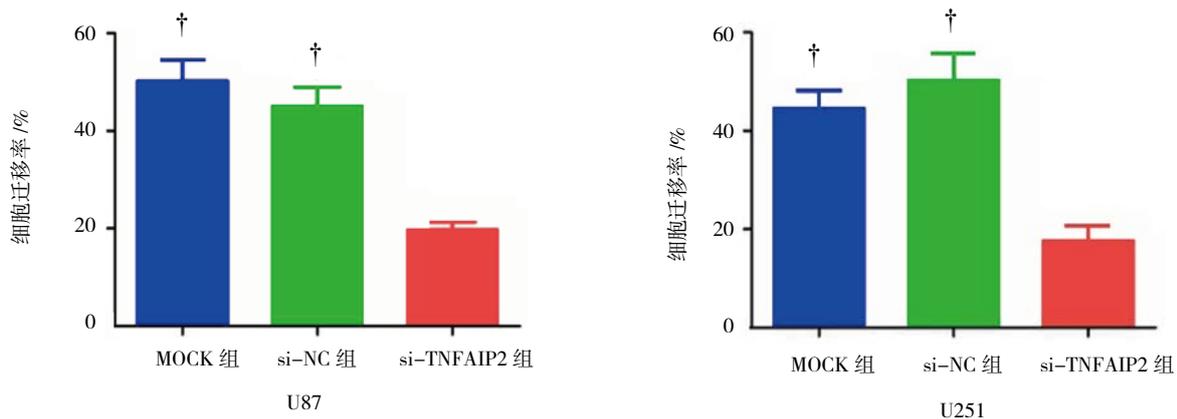


图 3 沉默 TNFAIP2 表达后 U87、U251 细胞迁移能力比较 (×200)



† 与 si-TNFAIP2 组比较, $P < 0.05$ 。

图 4 U87、U251 细胞迁移率的比较 ($\bar{x} \pm s$)

2.4 沉默 TNFAIP2 表达抑制 U87、U251 细胞侵袭

U87 细胞穿膜细胞数: si-TNFAIP2 组 (45.33 ± 8.14)、si-NC 组 (114.33 ± 8.14)、MOCK 组 (102.00 ± 11.36), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 55.225, P = 0.000$); 进一步行 LSD- t 检验, si-TNFAIP2 组抑制 U87 细胞的侵袭能力比 MOCK 组、si-NC 组更强 ($P < 0.05$); U251 细胞穿膜细胞数: si-TNFAIP 组 (52.33 ± 4.16)、si-NC 组 (122.33 ± 5.86)、MOCK 组 (113.67 ± 14.57), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 49.641, P = 0.000$); 进一步行 LSD- t 检验, si-TNFAIP2 组抑制 U251 细胞侵袭能力比 MOCK 组、si-NC 组更强 ($P < 0.05$)。见图 5、6。

2.5 沉默 TNFAIP2 表达抑制 U87、U251 细胞增殖

3 组 U87 及 U251 细胞 24、48 和 72 h 的吸光度值比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: U87 细胞各时间点的吸光度值有差异 ($F = 532.949, P = 0.000$), 3 组间 U87 细胞的吸光度值有差异 ($F = 69.652, P = 0.000$), 3 组间 U87 细胞吸光度值的变化趋势有差异 ($F = 69.890, P = 0.000$); U251 细胞各时间点的吸光度值有差异 ($F = 413.597, P = 0.000$), 3 组间 U251 细胞的吸光度值有差异 ($F = 793.612, P = 0.000$), 3 组间 U251 细胞吸光度值的变化趋势有差异 ($F = 55.243, P = 0.000$)。在 24 h 后 si-TNFAIP2 组的吸光度值低于其他两组。与 MOCK 组及 si-NC 组比较, 沉默 TNFAIP2 表达可抑制 U87 和 U251 细胞的增殖。见图 7 和表 1。

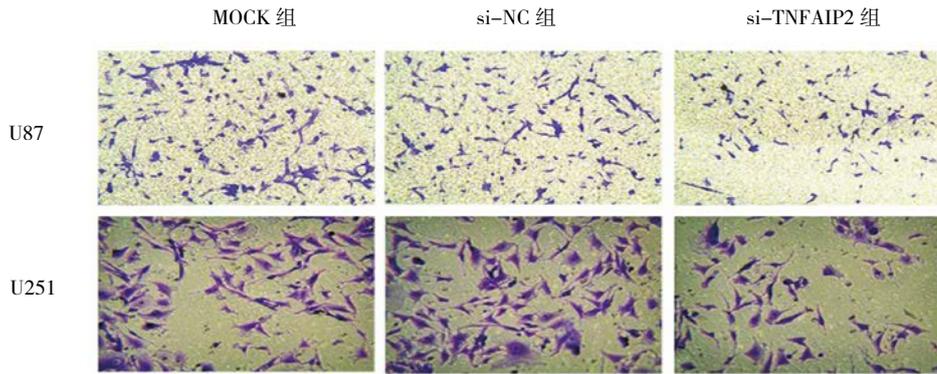
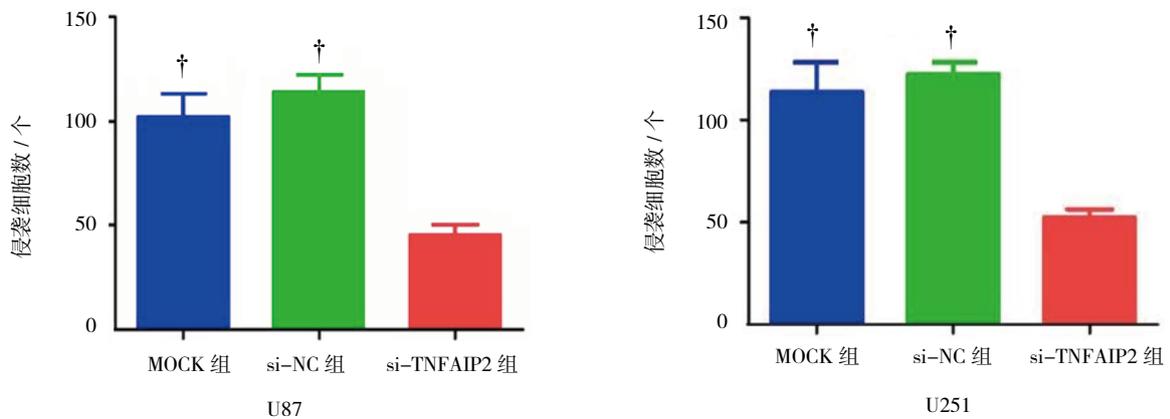


图 5 沉默 TNFAIP2 表达后 U87、U251 细胞侵袭能力比较 (×400)



† 与 si-TNFAIP2 组比较, $P < 0.05$ 。

图 6 U87、U251 细胞侵袭能力的比较 ($\bar{x} \pm s$)

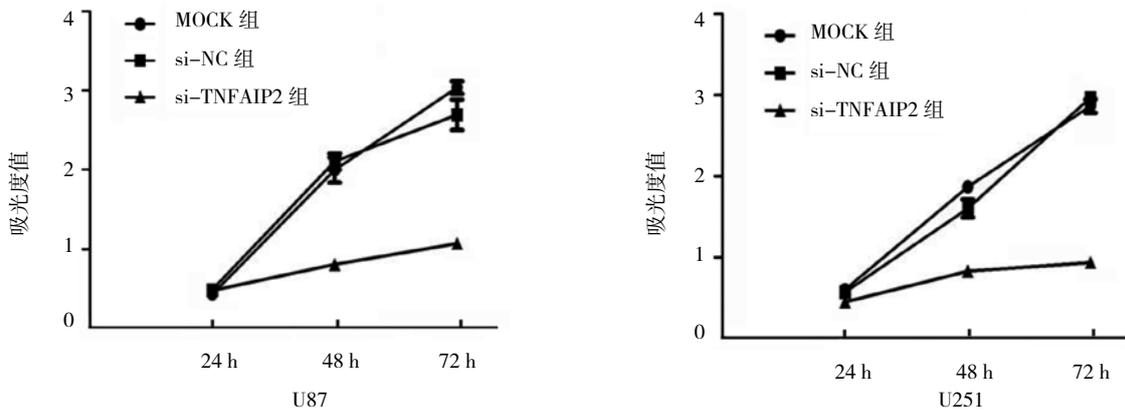


图 7 沉默 TNFAIP2 表达对 U87、U251 细胞吸光度值变化趋势

表 1 各组 U87 和 U251 细胞在 450 nm 波长处的吸光度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	U87			U251		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
MOCK 组	0.43 ± 0.10	1.99 ± 0.27	3.03 ± 0.14	0.60 ± 0.09	1.86 ± 0.04	2.86 ± 0.14
si-NC 组	0.48 ± 0.02	2.10 ± 0.17	2.69 ± 0.33	0.57 ± 0.11	1.60 ± 0.19	2.96 ± 0.12
si-TNFAIP2 组	0.31 ± 0.08	0.53 ± 0.06	0.86 ± 0.12	0.44 ± 0.04	0.82 ± 0.05	0.93 ± 0.06

3 讨论

胶质瘤细胞较强的增殖及侵袭特性是导致全切率低、术后复发及预后差的主要原因^[7-9],胶质瘤的侵袭性与术后复发密切相关^[10-11]。目前胶质瘤的治疗主要依赖手术最大范围的切除,术后辅助放疗、化疗及免疫治疗。肿瘤的精准治疗是最近比较热门的话题,脑胶质瘤的单克隆抗体治疗也逐步应用于临床^[12],然而寻找调控胶质瘤细胞增殖及侵袭功能相关的基因越来越成为研究的热点,胶质瘤靶基因的研究也为精准治疗提供了基础和依据。

大量研究表明, TNFAIP2 参与调控食管鳞状细胞癌^[3]、乳腺癌^[4]、胃癌^[13]及霍奇金淋巴瘤^[14],与癌症的发生、发展密切相关。食管鳞状细胞癌中 TNFAIP2 高表达,下调 TNFAIP2 表达后可以通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制癌细胞的侵袭迁移^[15]; TNFAIP2 在乳腺癌标本中高表达,且其表达量与乳腺癌的浸润生长及淋巴转移呈正相关^[16];鼻咽癌中 NF- κ B 可以上调 TNFAIP2 蛋白的表达,进而促进癌细胞的迁移^[17]。由此推断 TNFAIP2 参与调控肿瘤细胞的侵袭迁移。目前, TNFAIP2 在胶质瘤中的表达及调控研究无相关的报道,有实验团队前期工作发现 TNFAIP2 在胶质细胞及组织中高表达,是 miR-184 在胶质瘤中的直接靶基因^[6],然而 TNFAIP2 对胶质瘤细胞体外功能的影响不是很明确。

本研究显示, TNFAIP2 mRNA 在多株胶质瘤细胞中处于表达上调状态。而沉默 TNFAIP2 可抑制脑胶质瘤细胞的迁移和侵袭;沉默 TNFAIP2 表达后可以抑制 U87 和 U251 胶质瘤细胞的增殖。本研究结果证明下调 TNFAIP2 的表达可抑制胶质瘤细胞的迁移、侵袭和增殖。据此笔者推测 TNFAIP2 在胶质瘤中可能起到癌基因作用。虽然发现抑制 TNFAIP2 的表达可以抑制胶质瘤细胞的侵袭和增殖,但是其具体机制尚不明确,由于实验限制没有对侵袭及增殖、凋亡相关基因如 MMP-2、Caspase 及 BCL-2 等进行检测。胶质瘤的发生发展涉及到多个靶基因及多个信号通路的异常调控,仅依靠单一的靶基因难以有效达到抑制胶质瘤进展^[18-20]。仍需要高通量的基因测序和生物信息学等手段寻找 TNFAIP2 可能的信号通路。

综上所述,沉默 TNFAIP2 表达可以抑制胶质瘤细胞的迁移、侵袭与增殖能力。TNFAIP2 有可能成为脑胶质瘤治疗的分子靶标,同时还需要进一步的论证及机制研究。

参 考 文 献:

- [1] LI J, LI Q, LIN L, et al. Targeting the Notch1 oncogene by miR-139-5p inhibits glioma metastasis and epithelial-mesenchymal transition (EMT)[J]. BMC Neurol, 2018, 18(1): 133.
- [2] MANINI I, CAPONNETTO F, BARTOLINI A, et al. Role of microenvironment in glioma Invasion: What we learned from in vitro models[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(1): 147.
- [3] ZHANG J, YU H, ZHANG Y, et al. A functional TNFAIP2 3'-UTR rs8126 genetic polymorphism contributes to risk of esophageal squamous cell carcinoma[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e109318.
- [4] JIA L, ZHOU Z, LIANG H, et al. KLF5 promotes breast cancer proliferation, migration and invasion in part by upregulating the transcription of TNFAIP2[J]. Oncogene, 2016, 35(16): 2040-2051.
- [5] CHEN L C, CHEN C C, LIANG Y, et al. A novel role for TNFAIP2: its correlation with invasion and metastasis in nasopharyngeal carcinoma[J]. Modern Pathology, 2011, 24(2): 175-184.
- [6] CHENG Z, WANG H Z, LI X, et al. MicroRNA-184 inhibits cell proliferation and invasion, and specifically targets TNFAIP2 in Glioma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2015, 34(1): 27.
- [7] AHMED R, OBORSKI M J, HWANG M, et al. Malignant gliomas: current perspectives in diagnosis, treatment, and early response assessment using advanced quantitative imaging methods[J]. Cancer Manag Res, 2014, 6: 149-170.
- [8] CHEN R, SMITH-COHN M, COHEN A L, et al. Glioma subclassifications and their clinical significance[J]. Neurotherapeutics, 2017, 14(2): 284-297.
- [9] MILLER J J, SHIH H A, ANDRONESI O C, et al. Isocitrate dehydrogenase-mutant glioma: Evolving clinical and therapeutic implications[J]. Cancer, 2017, 123(23): 4535-4546.
- [10] LOUIS D N, PERRY A, REIFENBERGER G, et al. The 2016 world health organization classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. Acta Neuropathol, 2016, 131(6): 803-820.
- [11] CHEN S, HAN M, CHEN W, et al. KIF1B promotes glioma migration and invasion via cell surface localization of MT1-MMP[J]. Oncol Rep, 2016, 35(2): 971-977.
- [12] BABIC I, NURMEMMEDOV E, YENUGONDA V M, et al. Pritumumab, the first therapeutic antibody for glioma patients[J]. Hum Antibodies, 2018, 26(2): 95-101.
- [13] XU Y, MA H, YU H, et al. The miR-184 binding-site rs8126 T>C polymorphism in TNFAIP2 is associated with risk of gastric cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64973.
- [14] KONDRATIEV S, DURAISAMY S, UNITT C L, et al. Aberrant expression of the dendritic cell marker TNFAIP2 by the malignant cells of Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma distinguishes these tumor types from morphologically and phenotypically similar lymphomas[J]. Am J Surg Pathol, 2011, 35(10): 1531-1539.
- [15] XIE Y, WANG B. Downregulation of TNFAIP2 suppresses proliferation and metastasis in esophageal squamous cell carcinoma through activation of the Wnt/beta-catenin signaling

- pathway[J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(5): 2920-2928.
- [16] 张伟, 高志红, 张思雨, 等. 肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8, 2 和 Caspase-8 在乳腺肿瘤中的表达及临床意义 [J]. *河北北方学院学报 (自然科学版)*, 2018, 34(2): 14-16.
- [17] CHEN C C, LIU H P, CHAO M, et al. NF-kappaB-mediated transcriptional upregulation of TNFAIP2 by the Epstein-Barr virus oncoprotein, LMP1, promotes cell motility in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncogene*, 2014, 33(28): 3648-3659.
- [18] 庞智寅, 张云鹤, 张涛, 等. MicroRNA-25 表达下调对神经胶质瘤 U87 细胞增殖与凋亡的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(22): 36-41.
- [19] SONG Y, ZHENG S, WANG J, et al. Hypoxia-induced PLOD2 promotes proliferation, migration and invasion via PI3K/Akt signaling in glioma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(26): 41947-41962.
- [20] ZHANG T, MA G, ZHANG Y, et al. miR-599 inhibits proliferation and invasion of glioma by targeting periostin[J]. *Biotechnol Lett*, 2017, 39(9): 1325-1333.

(王荣兵 编辑)