

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.19.005

文章编号: 1005-8982(2017)19-0022-06

MIF 基因沉默对肝癌细胞系增殖凋亡及 ERK/RSK2 信号通路的影响

周鸣¹, 余蕾², 李琴山², 王碧², 杨国珍¹

(1. 贵州医科大学 医学检验学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学附属医院
贵州省产前诊断中心, 贵州 贵阳 550002)

摘要:目的 探讨 RNA 干扰介导的巨噬细胞移动抑制因子(MIF)基因沉默对肝癌细胞系 SMMC-7721 与 HepG2 凋亡的影响及可能的作用机制。**方法** 将 MIF-siRNA 干扰序列转染 SMMC-7721 与 HepG2 细胞, 以 Con-siRNA 序列转染的细胞作为对照。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)及 Western blot 检测 MIF 沉默效果, CCK-8 法测定细胞增殖情况, 流式细胞术检测细胞凋亡率。采用 Western blot 检测 MIF 沉默后凋亡相关基因 BCL-2、BAX、P53 的蛋白水平及细胞外信号调节激酶(ERK)、P90 核糖体 s6 激酶 2(RSK2)、糖原合成激酶 3 β (GSK3 β)、Bad 蛋白水平及其磷酸化水平。**结果** 沉默组细胞中 MIF mRNA 及蛋白表达水平与对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 沉默组低于对照组; 两组细胞增殖能力比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), MIF 沉默组细胞增殖能力低于对照组; 两组凋亡率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), MIF 沉默组细胞凋亡率高于对照组; 两组细胞 BAX、P53、BCL-2 蛋白水平比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), MIF 沉默组细胞 BAX、P53 的蛋白表达水平高于对照组, 而 BCL-2 蛋白水平低于对照组; 沉默组与对照组细胞中 ERK、RSK2 及 Bad 蛋白水平比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 而沉默组与对照组细胞中 GSK3 β 、p-GSK3 β 、p-ERK、p-RSK2 及 p-Bad 蛋白水平比较, 差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** MIF 基因沉默抑制 SMMC-7721 与 HepG2 细胞的增殖能力并促进细胞凋亡可能是通过调节 ERK/RSK2 信号通路实现的。

关键词: 巨噬细胞移动抑制因子; 基因沉默; 肝癌细胞系; 凋亡; 细胞外信号调节激酶

中图分类号: R735.7

文献标识码: A

Effect of silencing *MIF* gene by RNAi on proliferation, apoptosis and ERK/RSK2 signal pathway in hepatic carcinoma cell line

Ming Zhou¹, Lei Yu², Qin-shan Li², Bi Wang², Guo-zhen Yang¹

(1. School of Medical Laboratory Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550025, China; 2. Guizhou Provincial Prenatal Diagnosis Center, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550002, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of silencing *MIF* gene by RNA interference on apoptosis of hepatic carcinoma cell lines SMMC-7721 and HepG2 and the potential mechanism. **Methods** The MIF-siRNA interference sequence was transfected into SMMC-7721 and HepG2 cells, Con-siRNA transfected cells were used as the control group. The silencing effect of *MIF* gene was detected by qRT-PCR and Western blot. The ability of cell proliferation was evaluated by CCK-8 method. The cell apoptosis rate was detected by flow cytometry. The protein levels of Bcl-2, Bax, p53, extracellular signal-regulated kinase (ERK), p-ERK, p90 ribosomal s6 kinase 2 (RSK2), p-RSK2, glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β), p-GSK3 β , Bad and p-Bad were tested by Western blot. **Results** The expression levels of MIF gene in the cells of the silent groups were significantly lower than that in the control

收稿日期: 2017-01-16

[通信作者] 杨国珍, E-mail: myyl2004@163.com

group ($P < 0.05$). The ability of cell proliferation in the *MIF* silent groups was obviously lower than that in the control group ($P < 0.05$). The cell apoptosis rates in the *MIF* silent groups were significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). Bax and p53 protein levels in the cells of the *MIF* silent groups were higher than those of the control group, while the Bcl-2 protein level was lower than that of the control group ($P < 0.05$). Meanwhile, the protein levels of ERK, RSK2 and Bad were not significantly different between the two *MIF* silent groups and the control group ($P > 0.05$). However, the protein levels of GSK3 β , p-GSK3 β , p-ERK, p-RSK2 and p-Bad were significantly different between the two silent groups and the control group ($P < 0.05$). **Conclusions** Silence of *MIF* gene inhibits the proliferation and promotes the apoptosis of both SMMC-7721 and HepG2 cells maybe via regulation of the ERK/RSK2 signaling pathway.

Keywords: *MIF*; gene silencing; hepatic carcinoma cell line; apoptosis; ERK

原发性肝癌以肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)为主,发病率近年来逐渐增高,在所有恶性肿瘤中居世界第 6 位,国内第 3 位^[1]。巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)是一种功能多样的细胞因子,研究表明^[2-4],其在多种肿瘤组织细胞中高表达,并参与了肿瘤的发生发展和侵袭转移。近年来研究发现^[5-7],MIF 在多数肝癌患者血清及肝癌组织中呈高表达并促进肝癌细胞增殖,但目前国内外关于 MIF 与肝癌细胞凋亡之间关系的研究较少。因此,本课题拟利用 siRNA 介导的 *MIF* 基因沉默来研究其对肝癌细胞系 SMMC-7721 与 HepG2 凋亡的影响并探讨可能的分子信号通路,为选择 MIF 作为肝细胞癌治疗靶点提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

MIF-siRNA 和 Con-siRNA 序列由吉凯基因公司合成(MIF-siRNA 序列:正向 5'-GGGUCUACAUC AACUUAACUAUUAdTdT-3',反向 3'-dTdTCCAG AUGUAGUUGAUAAU-5'; Con-siRNA 序列:正向 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUDTdT-3',反向 3'-dTdT AAGAGGCUUGCACAGUGCA-5'), 配制终浓度为 20 μ mol。Lipofectamine™2000、DMEM 高糖培养基、胎牛血清、胰蛋白酶(北京鼎国昌盛生物公司), Trizol 试剂(大连宝生物公司), 兔抗人 MIF、BCL-2、BAX、P53、与 GAPDH 一抗、羊抗兔二抗(英国 Abcam 公司), ERK、p-ERK、RSK2、p-RSK2、GSK-3 β 、p-GSK-3 β 、Bad 与 p-Bad 一抗(美国 Santacruz 公司), 蛋白 Marker、PVDF 膜、脱脂奶粉、TBST、ECL 发光试剂盒等(北京康为世纪生物公司), CCK-8 试剂盒(上海谷研生物公司), SMMC-7721 与 HepG2 细胞系(中国科学院上海生化与细胞所)传代后用于本实验。蛋白膜成像扫描仪(美国 BioRad 公司)。

1.2 MIF-siRNA 转染细胞

当六孔板中 SMMC-7721 与 HepG2 细胞生长至 60%左右, 每孔用 5 μ l MIF-siRNA 和 Con-siRNA 稀释液进行转染(siRNA 工作浓度为 50 nmol), 方法参照 Lipofectamine™2000 说明书。

1.3 qRT-PCR 及 Western blot 检测 MIF 沉默效果

转染 48 h 后, 收集 MIF 沉默组和对照组 SMMC-7721 与 HepG2 细胞, Trizol 法提取总 RNA 并测定浓度。以人 GAPDH 为内参, 按照试剂盒说明书配制反应体系, 采用 Fast 7500 Real Time System 进行实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测, 每个样品设 3 个复孔。反应条件为 95 $^{\circ}$ C 30 s, 95 $^{\circ}$ C 3 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 共 40 个循环。数据分析采用比较 CT 法($\Delta\Delta$ CT), 相对表达量(RQ)= $2^{-\Delta\Delta$ CT}, 取 3 次平均值作图。Western blot 方法见 1.6。引物序列如下: GAPDH- 正向: 5'-GGAGCCAAAAGGGTCATCATCT C-3', GAPDH- 反向: 5'-GAGGGGCCATCCACAGTC TTCT-3'; MIF- 正向: 5'-CTATTACGACATGAACG CG-3', MIF- 反向: 5'-CAACTCCACCTTCGCCTAA-3'。

1.4 CCK-8 检测细胞增殖

转染 SMMC-7721 与 HepG2 24 h 后, 收集细胞并接种于 96 孔板中, 每孔 100 μ l 培养液, 约 2 500 个细胞, 每组设 3 个复孔。于接种第 1 天至第 5 天采用 CCK-8 法检测 MIF 沉默对 SMMC-7721 及 HepG2 细胞增殖的影响。每孔加入 100 μ l 新鲜培养基和 10 μ l CCK-8 溶液, 于 37 $^{\circ}$ C、5%二氧化碳 CO₂ 培养箱中孵育 2 h, 测定细胞在 A450 nm 处的吸收值, 连测 5 d, 实验重复 3 次。绘制细胞生长曲线。

1.5 流式细胞术检测细胞凋亡率

MIF-siRNA 转染 SMMC-7721 与 HepG2 48 h 后, 胰蛋白酶消化处理并离心收集沉默组和对照组细胞各 5×10^5 个于 1.5 ml EP 管中, 每管加入 500 μ l

结合缓冲液悬浮细胞,加入 5 μ l Annexin V-FITC 及 10 μ l PI 混匀并室温避光放置约 20 min, 然后采用流式细胞术检测细胞凋亡情况。实验重复 3 次。

1.6 Western blot 检测蛋白水平

转染 48 h 后, 收集沉默组和对照组 SMMC-7721 与 HepG2 细胞, 提取总蛋白并测定浓度。取 100 μ g 总蛋白, 加入 5 \times Loading Buffer, 沸水浴处理 10 min, 再冰浴 5 min, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。经 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜与封闭后用 MIF、BCL-2、BAX、P53、ERK、p-ERK、RSK2、p-RSK2、GSK-3 β 、p-GSK-3 β 、Bad、p-Bad 与 GAPDH 一抗及二抗杂交, 加上发光混合液后采用蛋白膜成像扫描仪检测结果。蛋白相对表达量 = 目的蛋白灰度值 / GAPDH 灰度值。

1.7 统计学方法

采用 SPSS17.0 进行统计学分析, 数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验, *P* <

0.05 为差异有统计学意义。

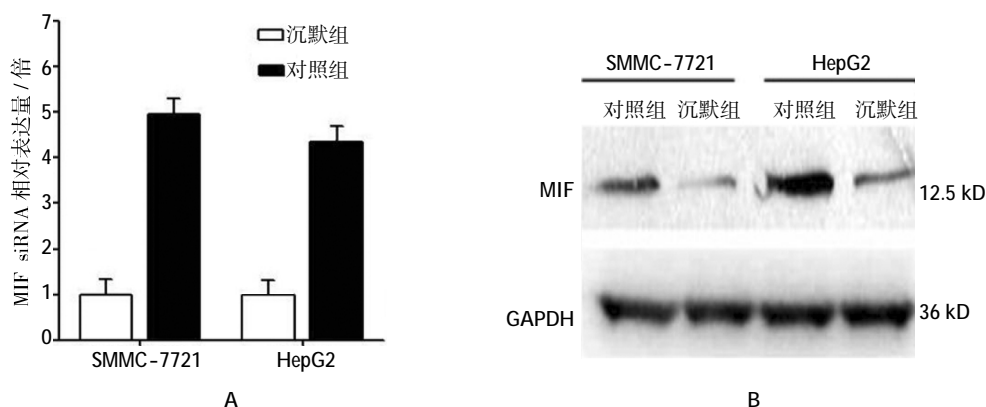
2 结果

2.1 MIF 沉默效果

MIF siRNA 转染细胞 48 h 后提取细胞总 RNA 与蛋白分别进行 qRT-PCR 与 Western blot 检测。结果显示, 与对照组 SMMC-7721 及 HepG2 细胞相比, 沉默组 2 种细胞中 MIF mRNA 与对照组比较, 差异有统计学意义 (*t* = 5.011 和 5.274, *P* = 0.007 和 0.006), 沉默组 2 种细胞中蛋白水平与对照组比较, 差异有统计学意义 (*t* = 12.875 和 14.423, *P* = 0.000 和 0.000), 沉默组表达降低。表明 MIF siRNA 的沉默效果较好。见图 1。

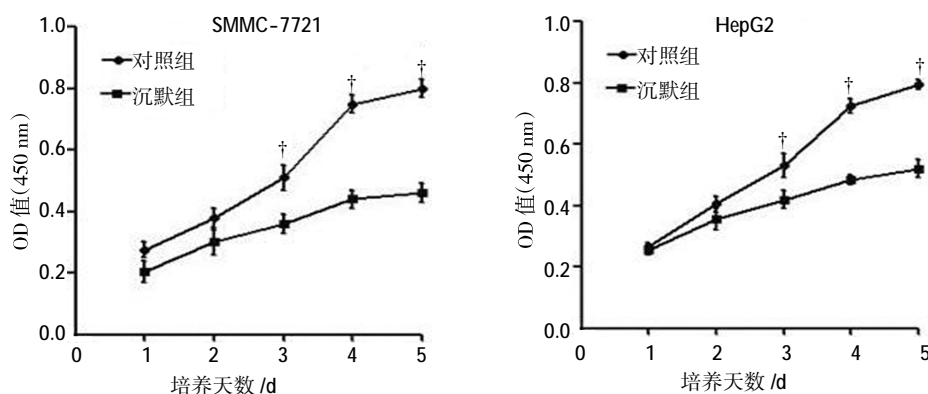
2.2 细胞增殖结果

采用 CCK-8 法检测 MIF 沉默对 2 种细胞增殖能力的影响。结果显示, 与对照组相比, MIF 沉默第 3 天至第 5 天, 沉默组 SMMC-7721 及 HepG2 细胞的增殖能力差异有统计学意义 (*t* = 5.155、3.362 和



A: MIF mRNA 水平, B: MIF 蛋白水平

图 1 MIF siRNA 沉默效果



† 两组比较, *P* < 0.05

图 2 细胞增殖能力

4.492, $P = 0.007, 0.028$ 和 0.011 ; $t = 3.319, 3.552$ 和 $4.042, P = 0.029, 0.024$ 和 0.016)。沉默组均下降。表明 MIF 基因沉默抑制了 SMMC-7721 与 HepG2 细胞的增殖能力。见图 2。

2.3 细胞凋亡情况

采用流式细胞术检测 MIF siRNA 转染 SMMC-7721 与 HepG2 细胞 48 h 后细胞凋亡率。结果显示, 两组 SMMC-7721 与 HepG2 细胞的早期凋亡率比较, 差异有统计学意义 ($t = 3.670$ 和 $2.941, P = 0.021$ 和 0.042), MIF 沉默组 SMMC-7721 与 HepG2 细胞的早期凋亡率增加, 而 2 种细胞晚期凋亡率比较, 差异有统计学意义 ($t = 6.552$ 和 $11.803, P = 0.003$ 和 0.000)。表明 MIF 被沉默后, 促进了细胞凋亡, 尤其是促进了晚期细胞凋亡。见图 3。

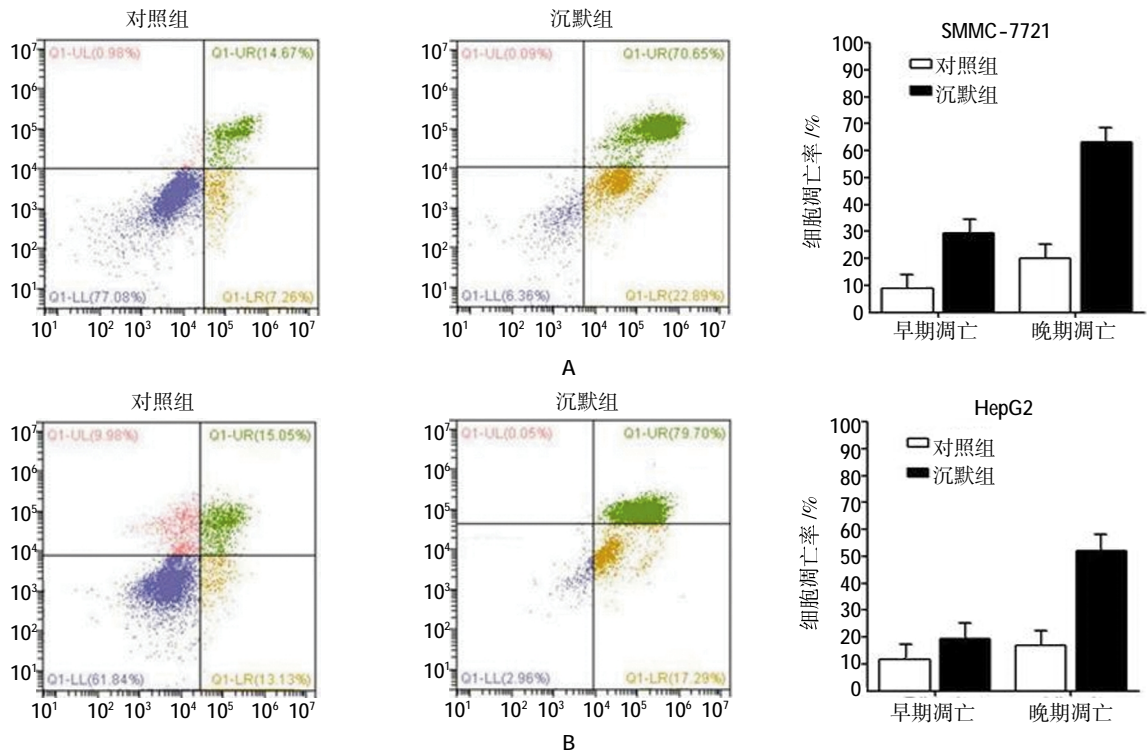
2.4 凋亡相关基因的蛋白水平

Western blot 检测结果显示, 两组细胞 BAX、

P53、BCL-2 蛋白水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), MIF 沉默组细胞 BAX、P53 的蛋白表达水平高于对照组, 而 BCL-2 蛋白水平低于对照组。表明 MIF 被沉默后, 促凋亡基因表达增加, 抗凋亡基因表达减少。见表 1、2, 图 4。

2.5 ERK 通路蛋白激酶及磷酸化水平

Western blot 检测结果显示, 沉默组与对照组 SMMC-7721 和 HepG2 细胞中 ERK、RSK2 与 Bad 总蛋白水平比较, 均差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。沉默组 SMMC-7721 与 HepG2 细胞中 GSK-3 β 蛋白水平与对照组相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。沉默组高于对照组。沉默组 SMMC-7721 与 HepG2 细胞中 p-ERK、p-RSK2、p-Bad 和 p-GSK-3 β 蛋白水平与对照组相比, 均差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 沉默组下调。表明 MIF 基因沉默影响了 ERK 信号通路中相关蛋白的活性。见图 5, 表 3、4。



A: MIF 沉默对 SMMC-7721 凋亡的影响; B: MIF 沉默对 HepG2 凋亡的影响

图 3 细胞凋亡情况

表 1 两组 SMMC-7721 细胞中相关蛋白相对表达量比较 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	MIF	BCL-2	BAX	P53
对照组	0.73 ± 0.04	0.61 ± 0.08	0.22 ± 0.02	0.15 ± 0.03
沉默组	0.12 ± 0.01	0.16 ± 0.03	0.45 ± 0.06	0.47 ± 0.05
t 值	25.625	9.122	6.299	9.505
P 值	0.000	0.001	0.003	0.001

表 2 两组 HepG2 细胞中相关蛋白相对表达量比较 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	MIF	BCL-2	BAX	P53
对照组	0.46 ± 0.05	0.27 ± 0.04	0.26 ± 0.06	0.27 ± 0.02
沉默组	0.18 ± 0.02	0.14 ± 0.03	0.53 ± 0.03	0.57 ± 0.07
t 值	9.801	4.503	6.971	7.775
P 值	0.001	0.011	0.002	0.001

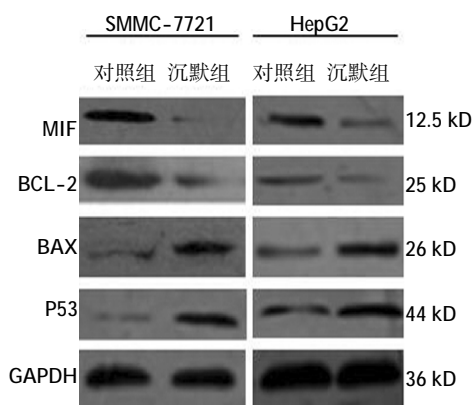


图 4 两组细胞凋亡相关基因的蛋白水平

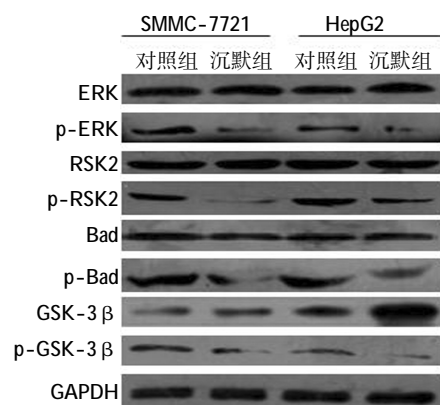


图 5 两组细胞 ERK 通路蛋白激酶及磷酸化水平

表 3 两组 SMMC-7721 细胞中相关蛋白相对表达量比较 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	ERK	p-ERK	RSK2	p-RSK2	Bad	p-Bad	GSK-3β	p-GSK-3β
对照组	1.07 ± 0.04	0.55 ± 0.05	1.05 ± 0.04	0.43 ± 0.03	1.02 ± 0.05	1.06 ± 0.07	0.26 ± 0.02	0.36 ± 0.05
沉默组	1.10 ± 0.03	0.26 ± 0.02	1.03 ± 0.03	0.22 ± 0.03	1.01 ± 0.05	0.34 ± 0.03	0.46 ± 0.04	0.22 ± 0.04
t 值	1.147	10.066	0.772	8.573	0.923	16.869	8.429	4.445
P 值	0.315	0.001	0.510	0.001	0.872	0.000	0.001	0.011

表 4 两组 HepG2 细胞中相关蛋白相对表达量比较 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	ERK	p-ERK	RSK2	p-RSK2	Bad	p-Bad	GSK-3β	p-GSK-3β
对照组	0.91 ± 0.03	0.32 ± 0.03	1.03 ± 0.02	0.72 ± 0.06	0.85 ± 0.03	0.91 ± 0.03	0.32 ± 0.04	0.25 ± 0.04
沉默组	0.94 ± 0.06	0.12 ± 0.02	0.99 ± 0.05	0.37 ± 0.07	0.83 ± 0.04	0.35 ± 0.05	1.12 ± 0.05	0.13 ± 0.02
t 值	0.786	10.142	1.043	6.976	0.606	18.559	24.042	5.091
P 值	0.476	0.001	0.356	0.002	0.577	0.000	0.000	0.007

3 讨论

HCC 作为人类最常见的一种恶性肿瘤,已成为仅次于胃癌和肺癌的第 3 大杀手^[9]。肿瘤的发展依赖于降低肿瘤细胞凋亡的发生,因此,促进肿瘤细胞凋亡是一种抑制肿瘤发展的潜在策略。MIF 广泛存在于各种组织,最初被认为是一种炎症介质,具有抑制巨噬细胞移动和黏附、参与机体炎症反应和调控细胞增殖分化等作用^[9-10]。研究发现^[11-12],MIF 与肿瘤的发生发展关系密切,且 MIF 在肝癌患者血清、肝癌组织及肝癌细胞系中呈现高表达^[13-14],其可能参与了肝癌的发生和发展。但目前关于 MIF 与肝癌细胞凋亡之间的研究较少。因此,本课题拟利用 siRNA 介导的 MIF 基因沉默来研究其对肝癌细胞系 SMMC-7721 与 HepG2 凋亡的影响并探讨可能的分子作用机制。

本研究首先将 MIF-siRNA 转染肝癌细胞系 SMMC-7721 与 HepG2,48 h 后采用 qRT-PCR 及

Western blot 技术检测 MIF 基因沉默效果,结果显示,与对照组相比,沉默组 SMMC-7721 与 HepG2 细胞中 MIF mRNA 及蛋白水平降低,表明 MIF 基因沉默效果良好。CCK-8 实验结果表明 MIF 沉默明显抑制了 2 种肝癌细胞的增殖,与 HUANG 等^[15]研究结果一致。流式细胞术检测结果显示,MIF 基因沉默增加了肝癌细胞的凋亡率,且更促进了细胞不可挽回的晚期凋亡,该结果表明,MIF 基因表达水平与肝癌细胞凋亡之间存在密切关系。然后采用 Western blot 方法检测了几种常见的凋亡相关基因的蛋白水平,结果显示,MIF 基因沉默可明显下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平并上调促凋亡蛋白 P53 与 Bax 水平。P53 基因与细胞基因组完整性、修复 DNA 损伤、促进癌细胞凋亡等关系密切,其可以通过激活 BAX 并下调 BCL-2 的表达来共同发挥作用,但 P53 促进肿瘤细胞凋亡的作用可被 MIF 抑制^[16-17],该结果从分子水平上表明 MIF 基因沉默对肝癌细胞凋亡的促进作用。

ERK 通路是丝裂原活化蛋白激酶信号通路重要组成部分,在调控细胞增殖、存活与凋亡方面发挥重要作用^[10]。为进一步探讨 *MIF* 基因沉默促进肝癌细胞凋亡的分子作用机制,检测了细胞中 ERK 通路中相关基因的蛋白水平。Western blot 结果显示,与对照组相比,沉默组细胞中 ERK、RSK 和 Bad 的蛋白水平并未发生明显变化,而 p-ERK、p-RSK2、p-Bad 和 p-GSK-3 β 的蛋白水平下调,GSK-3 β 蛋白水平上调。蛋白激酶的磷酸化水平直接影响了该激酶自身的活性及其下游新号分子的活化进而调控信号传导过程。RSK2 是 ERK 下游的一级效应蛋白,活化后可通过调节与增殖凋亡相关蛋白 GSK-3 β 、Bad 等一些下游靶蛋白影响细胞增殖、凋亡等。本研究表明,*MIF* 基因沉默后,细胞中 p-ERK 水平下降,减少的 p-ERK 直接导致下游 RSK2 磷酸化水平的降低,同样,p-RSK2 水平下降影响了直接下游蛋白 GSK-3 β 的磷酸化,p-GSK-3 β 下调可抑制细胞的增殖与存活。Bad 也是 RSK2 的底物蛋白之一,*MIF* 沉默下调了 p-Bad 水平,进而促进了细胞的凋亡。

综上所述,siRNA 介导的 *MIF* 基因沉默抑制肝癌细胞系 SMMC-7721 与 HepG2 的增殖能力并促进细胞凋亡可能是通过调节 ERK/RSK2 信号通路发挥作用。该研究为选择 *MIF* 作为肝癌的治疗靶点提供一定的依据,但癌症的发生过程涉及多种因素的参与,仍需进一步深入地研究。

参 考 文 献:

- [1] LI M, QIAO C, QIN L, et al. Application of traditional Chinese medicine injection in treatment of primary liver cancer: a review[J]. J Tradit Chin Med, 2012, 32(3): 299-307.
- [2] LO M C, YIP T C, CHENG W, et al. Role of MIF/CXCL8/CXCR2 signaling in the growth of nasopharyngeal carcinoma tumor spheres[J]. Cancer Letters, 2013, 335(1): 81-92.
- [3] CHEN L Z, ZHOU X, FAN L X, et al. Macrophage migration inhibitory factor promotes cyst growth in polycystic kidney disease[J]. Journal of Clinical Investigation, 2015, 125(6): 2399-2412.
- [4] 马宁,周云. 胃癌组织中 miR-451 与 MIF 的表达及与临床病理的关系[J]. 中国老年学杂志, 2015, 3: 655-656.
- [5] ZHAO Y M, WANG L, DAI Z, et al. Validity of plasma macrophage migration inhibitory factor for diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. Int J Cancer, 2011, 129(10): 2463-2472.
- [6] WANG D, LUO L, CHEN W, et al. Significance of the vascular endothelial growth factor and the macrophage migration inhibitory factor in the progression of hepatocellular carcinoma[J]. Oncology reports, 2014, 31(3): 1199-1204.
- [7] 陶斌胜,熊茂明,曹立宇. 肝癌组织中 MIF、TNF- α 的表达及临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 11: 1177-1180.
- [8] LI Z, JING A R, WANG S B, et al. Clinicopathological predictors of poor survival and recurrence after curative resection in hepatocellular carcinoma without portal vein tumor thrombosis[J]. Pathology & Amp, Oncology Research, 2015, 21(1): 131-138.
- [9] WANG K, LIANG Q, WEI L, et al. MicroRNA-608 acts as a prognostic marker and inhibits the cell proliferation in hepatocellular carcinoma by macrophage migration inhibitory factor[J]. Tumour Biol, 2016, 37(3): 3823-3830.
- [10] SAULER M, BUCALA R, LEE P J. Role of macrophage migration inhibitory factor in age-related lung disease [J]. AJP: Lung Cellular and Molecular Physiology, 2015, 309(1): 1-10.
- [11] HU C T, GUO L L, FENG N, et al. MIF, secreted by human hepatic sinusoidal endothelial cells, promotes chemotaxis and outgrowth of colorectal cancer in liver prometastasis[J]. Oncotarget, 2015, 6(26): 22410-22423.
- [12] AXEL D, CHRISTIAN P, DANIELA M, et al. Inhibition of MIF leads to cell cycle arrest and apoptosis in pancreatic cancer cells[J]. Journal of Surgical Research, 2010, 160(1): 29-34.
- [13] KAMEL M M, SAAD M F, MAHMOUD A A, et al. Evaluation of serum PIVKA-II and MIF as diagnostic markers for HCV/HBV induced hepatocellular carcinoma [J]. Microb Pathog, 2014, 77: 31-35.
- [14] 于晓辉,段惠春,杨晓萍,等. 肝细胞性肝癌血清中 MIF、IL-17、IL-10 的检测及其临床意义[J]. 中国肿瘤临床, 2013, 12: 714-716.
- [15] HUANG X H, JIAN W H, WU Z F, et al. Small interfering RNA (siRNA)-mediated knockdown of macrophage migration inhibitory factor (MIF) suppressed cyclin D1 expression and hepatocellular carcinoma cell proliferation [J]. Oncotarget, 2014, 5(14): 5570-5580.
- [16] FUKAYA R, OHTA S, YAGUCHI T, et al. MIF maintains the tumorigenic capacity of brain tumor-initiating cells by directly inhibiting p53[J]. Cancer Res, 2016, 76(6): 1305-1314.
- [17] WANG H, YANG Z, LIU C, et al. RBP-J-interacting and tubulin-associated protein induces apoptosis and cell cycle arrest in human hepatocellular carcinoma by activating the p53-Fbxw7 pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 454(1): 71-77.
- [18] CUI YT, LU PR, SONG G, et al. Involvement of PI3K/Akt, ERK and p38 signaling pathways in emodin-mediated extrinsic and intrinsic human hepatoblastoma cell apoptosis[J]. Food and Chemical Toxicology, 2016, 92: 26-37.

(张蕾 编辑)