

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.06.002

文章编号: 1005-8982 (2018) 06-0009-06

miRNA-381 对胃癌细胞增殖和侵袭的影响及机制*

李丽平¹, 叶俊¹, 吴舜¹, 马松林², 周艳玲¹

(1. 武汉科技大学医学院 生理与病理生理学系, 湖北 武汉 430014; 2. 华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院后湖院区 消化内科, 湖北 武汉 430014)

摘要: **目的** 观察 miRNA-381 对胃癌细胞增殖和侵袭的影响, 并探讨其作用机制。**方法** 应用实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测胃癌细胞系 AGS、MGC-803、Hs746T 及 BSG823 和正常胃黏膜上皮细胞系 RGM-1 中 miRNA-381 的表达; 将 AGS 细胞系分成两组, 阴性对照组和 miRNA-381 模拟物组, 采用 Lipofectamine™ 2000 分别转染 miRNA-381 scramble 及 mimics, 采用 CCK-8、Transwell 实验测定两组细胞增殖和侵袭的影响, Western blot 检测两组细胞肝受体类似物 1 (LRH-1) 和扭曲相关蛋白 1 (Twist1) 表达水平。**结果** 胃癌细胞系 AGS、MGC-803、Hs746T 及 BSG823 中 miRNA-381 相对表达量较正常胃黏膜上皮细胞系 RGM-1 为低。miRNA-381 模拟物组在转染后 72 和 96 h OD 450 nm 值低于阴性对照组 ($P < 0.05$); 阴性对照组侵袭细胞数为 (79.6 ± 7.2) 个, miRNA-381 模拟物组侵袭细胞数为 (31.70 ± 4.2) 个, miRNA-381 模拟物组侵袭细胞数少于阴性对照组 ($P < 0.01$); miRNA-381 模拟物组 LRH-1 蛋白相对表达量为 (0.39 ± 0.04) , 阴性对照组为 1.0, miRNA-381 模拟物组 LRH-1 蛋白相对表达量低于阴性对照组 ($P < 0.01$); miRNA-381 模拟物组 Twist1 蛋白相对表达量为 (0.51 ± 0.05) , 阴性对照组为 1.0, miRNA-381 模拟物组 Twist 1 蛋白相对表达量低于阴性对照组 ($P < 0.01$)。**结论** miRNA-381 低表达于胃癌细胞系, miRNA-381 过表达可抑制胃癌细胞增殖和侵袭能力, 其机制可能与下调 LRH-1 和 Twist1 的表达有关。

关键词: 胃癌; miRNA-381; 增殖; 侵袭; 肝受体类似物 1; 扭曲相关蛋白 1

中图分类号: R735.2

文献标识码: A

Role of miR-381 on cell proliferation and invasion of gastric cancer*

Li-ping Li¹, Jun Ye¹, Shun Wu¹, Song-lin Ma², Yan-ling Zhou¹

(1. Department of Gastroenterology, Wuhan Central Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430014, China; 2. Department of Physiology and Pathophysiology, Wuhan University of Technology, Wuhan, Hubei 430014, China)

Abstract: Objective To investigate the role of miR-381 on proliferation and invasion of gastric carcinoma cells and its potential mechanism. **Methods** The expression of miR-381 in normal and gastric cell lines were determined by qRT-PCR. The AGS cell line was divided into two groups including negative control group which was transfected with miR-381 vehicle, and miR-381 mimics group which was transfected with miR-381 mimics through Lipofectamine 2000. Proliferation and invasion rate were evaluated with CCK8 and Transwell assay, respectively. LRH-1 and Twist1 protein levels were measured by Western blot. **Results** Substantially reduction of miR-381 was

收稿日期: 2017-04-17

* 基金资助: 湖北省卫生计生厅资助课题 (No: WJ2017M177)

[通信作者] 周艳玲, E-mail: zylwei@126.com

found in gastric cancer cell line when compared with normal gastric cell line ($P < 0.05$). The number of invasive cell in miR-381 mimics group was decreased significantly compared with negative control group [(31.70 ± 4.2) vs (79.6 ± 7.2) , $P < 0.01$]. Expression levels of LRH-1 and Twist1 significantly dropped in miR-381 mimics group in comparison with those in negative control group [(0.39 ± 0.04) vs (1.0 ± 0.0) , (0.51 ± 0.05) vs (1.0 ± 0.05) , $P < 0.01$, respectively]. **Conclusions** Low expression of miR-38 is identified in gastric cell line. Up-regulated expression of miR-381 contributes to inhibition of cellular proliferation and invasion activity through LRH-1 and Twist signal pathway.

Keywords: gastric cancer; miR-381; proliferation; invasion; LRH-1; Twist1

胃癌是致死率很高的恶性肿瘤之一, 据统计, 2012 年全球范围内胃癌发病人数约 951, 000 例, 死亡人数高达 723, 000 例^[1]。同时胃癌也是一种高度异质性疾病, 侵袭和转移能力极强, 具有复杂的分子和组织学特征^[2]。微小 RNA (microRNA, miRNA) 是在多细胞生物中发现的一类调节性 RNAs, 在人体内广泛分布, 通过靶向 mRNA 3' UTR 触发翻译抑制或 RNA 降解^[3]。越来越多的研究表明, miRNA 的改变如缺失、扩增、突变或表观遗传沉默等与大多数恶性肿瘤的发生、发展、转移有关^[4]。由于 miRNA 在恶性肿瘤细胞中普遍表达异常, 表明 miRNAs 控制抑癌基因或促癌基因, 亦或是被其控制, 因此 miRNA 的发现为寻找肿瘤早期诊断特异性分子标志物及基因靶向治疗提供新的方向^[4]。研究发现, miRNA 与胃癌的发生密切相关, 如 Let-7^[5]、miRNA-101^[6]、miRNA-130b 等^[7]。miRNA-381 是 miRNA 家族一员, 被证实参与胶质瘤^[8]、肾癌^[9]及乳腺癌等^[10]肿瘤生长。但是 miRNA-381 在胃癌中的研究还未有涉及, 本研究观察 miRNA-381 在胃癌细胞系及正常胃上皮细胞系中的表达及过表达 miRNA-381 对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响, 探索其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

胃癌细胞系 AGS、MGC-803、Hs746T 及 BSG823 和正常胃黏膜上皮细胞系 RGM-1 (购自北京协和医学院), RPMI 1640 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶及 Trizol (购自美国 BD 公司), 肝受体类似物 1 (liver receptor homolog-1, LRH-1) 和扭曲相关蛋白 1 (twist-related protein-1, Twist1) 一抗 (购自 cell signaling 公司), 羊抗兔二抗 (购自武汉博士德生物科技有限公司), miRNA-381 mimics 及 scramble (由上海吉玛生物科技有限公司合成)。

1.2 细胞培养、转染及分组

将胃癌细胞系 AGS、MGC-803、Hs746T 及

BSG823 和正常胃黏膜上皮细胞系 RGM-1 加入到 RPMI 1640 培养基, 于 37 °C、5% 二氧化碳 CO₂ 培养箱中培养, 经 48 h 后消化传代。将 AGS 细胞系分成两组, 阴性对照组和 miRNA-381 模拟物组, 采用 Lipofectamine™ 2000 reagent (Invitrogen, USA) 分别转染 miRNA-381 scramble 及 mimics, miRNA-381 mimics 转染序列: miRNA-381 mimics 正向引物: 5'-UAUACAAGGGCAAGCUCUCUGU-3', 反向引物: 5'-AGAGAGCUUGCCCUUGUAUAUU-3'; miRNA-381 scramble 正向引物: 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3', 反向引物: 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。

1.3 RNA 提取及实时荧光定量聚合酶链反应

① miRNA-381 表达量测定: 用 All-in-One micro RNA 抽提试剂盒提取 AGS、MGC-803、Hs746T、BSG823 和 RGM-1 细胞系的 miRNAs, ABI Prism 7700 system 的 SYBR Green Reagents (TaKaRa, 日本 Tokyo) 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR), 在 ABI 7500 qRT-PCR 仪中, 以 U6 小核 RNA 作为内参, 使用 2^{-ΔΔCt} 方法定量, 量化 miRNA-381 相对表达水平; ② LRH-1 和 Twist1 mRNA 表达量测定。

提取 miRNA-381 模拟物组和阴性对照组两组细胞总 RNA 后, 在 ABI 7500 实时定量 PCR 仪中, 以 GAPDH 为内参, 引物序列: LRH-1, 正向引物: 5'-CTGATACTGGAACCTTTTGAA-3', 反向引物: 5'-CTTCATTGTCATCAACCTT-3'; Twist1, 正向引物: 5'-AGAAGTCTGCGGGCTGTGGCG-3', 反向引物: 5'-GAGGGCAGCTGGGGAGATC-3'; GAPDH 正向引物: 5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3', 反向引物: 5'-GAAGATGGTGATGGGATTT-3'。使用 2^{-ΔΔCt} 方法定量, 量化 LRH-1 和 Twist1 mRNA 相对表达水平。

1.4 细胞增殖实验

采用 CCK-8 法, 将阴性对照组和 miRNA-381 模拟物组细胞, 按 2×10^3 个/孔接种于 96 孔板上, 按

200 μ l 每孔标准培养,在培养后 0、24、48、72 及 96 h 后,按每孔 20 μ l 的标准加入 CCK-8 溶液,用酶标仪在 490 nm 处的波长下测定各孔的光密度 (optical density, OD) 值,绘制细胞增殖曲线。

1.5 细胞侵袭实验

采用 Transwell 法,将阴性对照组和 miRNA-381 模拟物组两组细胞各取 2×10^4 个细胞,接种于碳酸磷脂表面,于 37 $^{\circ}$ C 下培养 24 h,用 1% 多聚甲醛与膜下面的细胞结合并用 0.2% 结晶紫溶液染色,随机取 10 个视野 ($\times 200$),计算穿过膜的细胞数量,重复 3 次该实验,并取均值。

1.6 Western blot

将阴性对照组和 miRNA-381 模拟物组两组细胞经 RIPA 细胞裂解液冰上裂解 30 min 后,变性、上样,以每孔 30 μ g 总蛋白上样,浓缩胶 80 V 电泳 40 min,分离胶 100 V 电泳 2 h。常规湿法转膜,加入 LRH-1、Twist 1 及 GAPDH 一抗,浓度为 1 : 200,一抗孵育过夜,二抗 (1 : 500) 于 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h, PBST 漂洗 3 次, ECL 液显影, Quantity One 1-D 分析软件对蛋白印迹条带进行定量。目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白测定值 / GAPDH, 实验重复 3 次,取平均值。

1.7 统计学方法

数据分析用 SPSS 17.0 统计软件和 Graph 软件,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 t 检验或方差分析,两两比较用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miRNA-381 在胃癌及正常胃黏膜上皮细胞系中的表达

qRT-PCR 检测 miRNA-381 的表达量,正常胃黏膜上皮细胞系 RGM-1 的 miRNA-381 相对表达量为 1.0,在胃癌细胞系 AGS 中相对表达量为 (0.19 ± 0.03) , MGC-803 为 (0.29 ± 0.03) , Hs746T 为 (0.47 ± 0.06) , BSG823 为 (0.56 ± 0.06) ,经方差分析,差异有统计学意义 ($F=93.260, P=0.000$);经 LSD- t 检验,miRNA-381 在胃癌细胞系 AGS、MGC-803、Hs746T 及 BSG823 中相对表达量均低于 RGM-1 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 miRNA-381 过表达抑制胃癌细胞 AGS 增殖

在 AGS 细胞中过表达 miRNA-381 模拟物,用 qRT-PCR 检测其相对含量变化,miRNA-381 模拟物组 miRNA-381 相对表达量为 (10.5 ± 0.9) ,阴性对照组

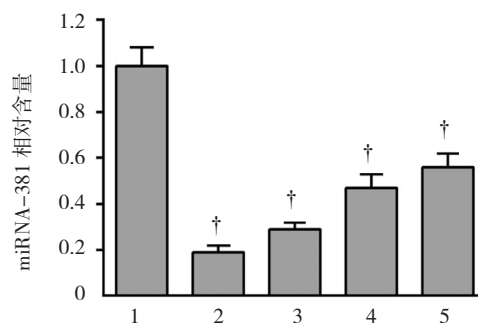
为 (1.0 ± 0.03) ,miRNA-381 模拟物组的 miRNA-381 表达量高于阴性对照组 ($t=18.272, P=0.000$)。转染后 0、24、48、72 及 96 h,miRNA-381 模拟物组 vs 对照组的 OD 450 nm 值分别为 $(0.32 \pm 0.03$ vs $0.31 \pm 0.04)$ ($t=0.346, P=0.373$), $(0.53 \pm 0.06$ vs $0.55 \pm 0.07)$ ($t=-0.375, P=0.363$), $(1.05 \pm 0.09$ vs $1.10 \pm 0.12)$ ($t=-0.577, P=0.297$), $(1.49 \pm 0.15$ vs $2.36 \pm 0.25)$ ($t=-5.168, P=0.003$) 及 $(2.22 \pm 0.21$ vs $3.55 \pm 0.29)$ ($t=-6.433, P=0.000$)。见图 2。

2.3 miRNA-381 过表达抑制胃癌细胞 AGS 侵袭

Transwell 实验示,200 倍视野下,阴性对照组侵袭细胞数为 (79.6 ± 7.2) 个,miRNA-381 模拟物组侵袭细胞数为 (31.70 ± 4.2) 个,miRNA-381 模拟物组侵袭细胞数少于阴性对照组 ($t=9.953, P=0.002$)。见图 3。

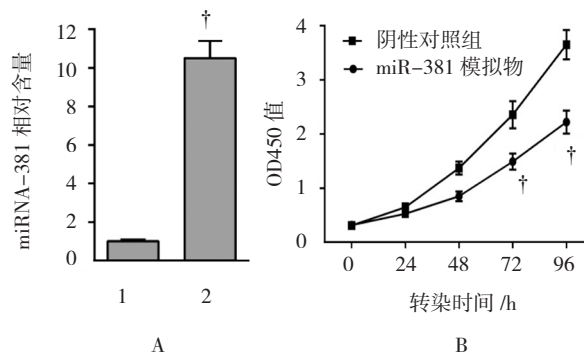
2.4 miRNA-381 下调 LRH-1 和 TWIST1 的表达

qRT-PCR 示,miRNA-381 模拟物组 LRH-1 mRNA 相对表达量为 (0.33 ± 0.04) ,阴性对照组为 (1.0 ± 0.02) ,miRNA-381 模拟物组 LRH-1 mRNA 相



1: 正常胃黏膜上皮细胞; 2: AGS; 3: MGC-803; 4: Hs746T; 5: BSG823. †与正常胃黏膜上皮细胞比较, $P < 0.05$

图 1 miRNA-381 在胃癌细胞系及正常胃黏膜上皮细胞系中的表达



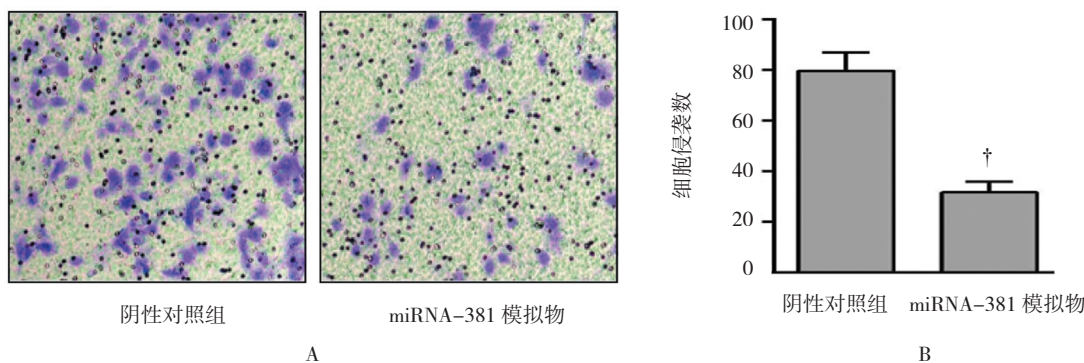
1: 阴性对照组; 2: miRNA-381 模拟物。A: miRNA-381 相对表达量; B: 细胞增殖曲线。†与阴性对照组比较, $P < 0.05$

图 2 miRNA-381 过表达抑制胃癌细胞 AGS 增殖

对表达量低于阴性对照组 ($t=25.948, P=0.000$); 见图 4A; miRNA-381 模拟物组 Twist1 mRNA 相对表达量为 (0.45 ± 0.04), 阴性对照组为 (1.0 ± 0.02), miRNA-381 模拟物组 Twist 1 mRNA 相对表达量低于阴性对照组 ($t=-21.301, P=0.000$), 见图 4B。

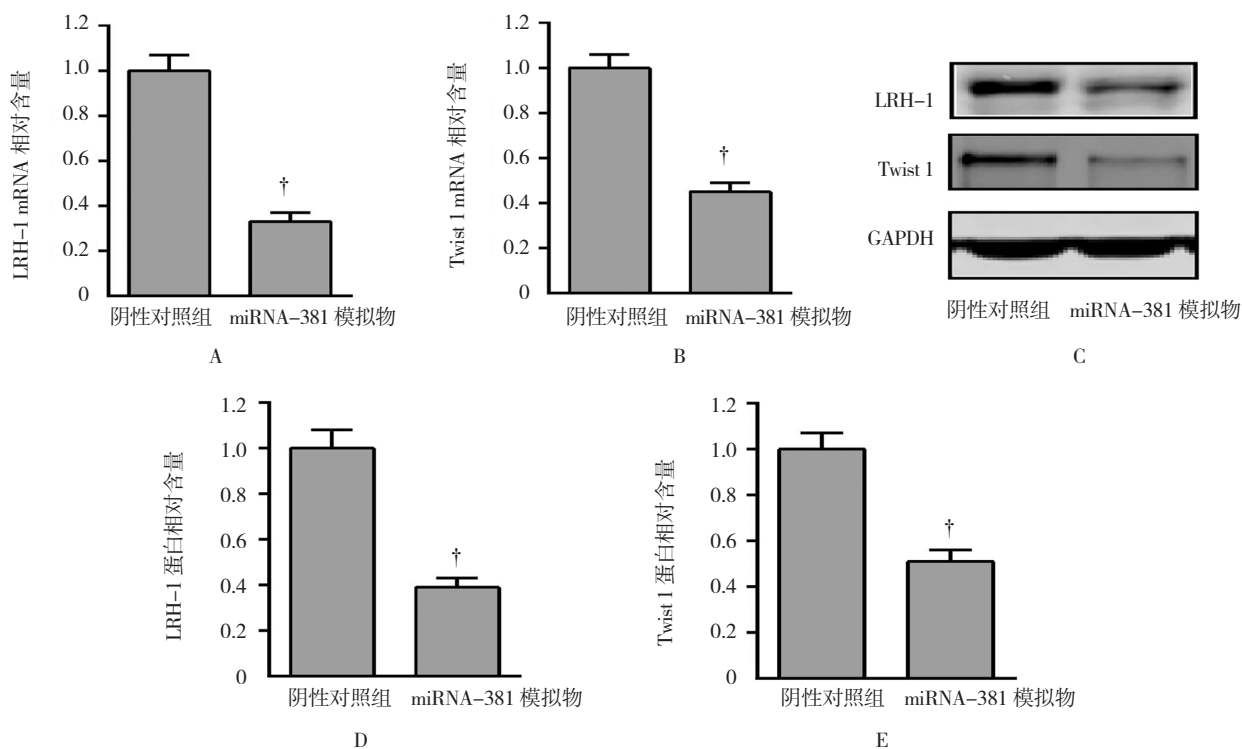
Western blot 示, miRNA-381 模拟物组 LRH-1 蛋白相对表达量为 (0.39 ± 0.04), 阴性对照组为 ($1.0 \pm$

0.02), miRNA-381 模拟物组 LRH-1 蛋白相对表达量低于阴性对照组 ($t=-23.625, P=0.000$); 见图 4C、4D; miRNA-381 模拟物组 Twist 1 蛋白相对表达量为 (0.51 ± 0.05), 阴性对照组为 (1.0 ± 0.01), miRNA-381 模拟物组 Twist 1 蛋白相对表达量低于阴性对照组 ($t=-16.644, P=0.000$), 见图 4C 和 4E。



A: Transwell 实验; B: 侵袭细胞数。† 与阴性对照组比较, $P < 0.05$

图 3 miRNA-381 过表达抑制胃癌细胞 AGS 侵袭



A: LRH-1 mRNA 相对表达量; B: Twist 1 mRNA 相对表达量; C: LRH-1 及 Twist 1 的表达 (Western blot); D: LRH-1 蛋白表达, E: Twist 1 蛋白表达

图 4 miRNA-381 下调 LRH-1 和 TWIST 1 的表达

3 讨论

尽管过去几十年中, 胃癌的发病率和死亡率持续

下降, 但是胃癌仍然是世界上第 4 大常见的恶性肿瘤和癌症死亡的第 2 大原因^[11]。胃癌患者预后较差, 5 年

生存率低于30%,大多数胃癌患者的死亡是由于转移或复发导致^[11]。研究发现,miRNAs通过调控一系列侵袭和转移相关基因,在肿瘤的侵袭和转移过程中起到关键作用^[12]。在本研究显示,在正常胃上皮细胞系中miRNA-381表达高于胃癌细胞系。更重要的是,过量表达miRNA-381能抑制胃癌细胞增殖、侵袭、迁移能力,表明miRNA-381在胃癌浸润、侵袭及转移中发挥抑癌基因作用。

本研究发现,miRNA-381过表达引起LRH-1蛋白表达水平下降。研究证实,LRH-1是miRNA-381的靶蛋白,miRNA-381通过直接靶向LRH-1 3'-UTR抑制肝癌细胞生长和侵袭^[13]。在结肠癌中,miRNA-381表达下降上调LRH-1蛋白水平促进结肠癌细胞生长、增殖、迁移^[14]。意味着LRH-1活性的增加与胃癌细胞迅速增长和增殖有一定关联。细胞周期蛋白D1和E1(Cyclin D1和Cyclin E1)是细胞周期G₁期关键蛋白,能够与细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)组成Cyclin D1-CDK4/6和Cyclin E1-CDK2复合物参与调控G₁/S期转变^[15]。Cyclin D1已被证实是一种原癌基因,其过度表达导致细胞增殖失控和恶化^[16]。Cyclin E1在多种肿瘤组织中表达较高,与肿瘤发生、发展密切相关^[17]。C-Myc基因也是一个公认的原癌基因,在多种肿瘤中被激活,其靶基因参与肿瘤细胞生长、凋亡和代谢过程中^[18]。研究发现,LRH-1与β-catenin能够协同共激活下游基因Cyclin D1、Cyclin E1及c-Myc的表达,促进肠肿瘤细胞增殖^[19]。已有研究证实,LRH-1基因沉默降低Cyclin D1、Cyclin E1及c-Myc的表达水平,抑制胰腺癌细胞增殖^[19]。本研究中,miRNA-381表达上升导致LRH-1蛋白表达下调,其作用机制可能是miRNA-381直接结合LRH-1 3'-UTR,在转录后水平负调控LRH-1基因的表达。笔者推测,LRH-1与β-catenin协同共激活Cyclin D1、Cyclin E1及c-Myc的作用减弱,使G₁/S期转换受抑制,导致细胞阻滞于G₀/G₁期,进入S期和G₂期的细胞数目减少,同时使c-Myc靶基因表达失控,降低胃癌细胞增殖和侵袭能力。

在肿瘤转移过程中,细胞间黏附和连接能力降低,导致肿瘤细胞脱落并迁移到其他组织、器官是肿瘤转移的重要环节^[20]。上皮间质转化是上皮细胞表型向间质细胞表型转变的过程,主要特征为细胞黏附分子的表达减少、细胞骨架及形态改变,在肿瘤浸润和迁移过程中起关键作用^[21]。转录因子Twist-1是上皮间质转化的重要调节因子,Twist-1表达上升诱导发生该

过程,参与肿瘤侵袭和转移发生机制^[22]。研究发现,Twist-1 3'-UTR含有大量miRNAs的调控元件,包括miRNA靶点,多个miRNAs被证实能够抑制Twist-1的翻译,如miRNA-145a-5p、miRNA-151-5p等^[23]。据报道,miRNA-106b通过靶向Twist-1调控子宫内膜癌细胞系上皮间质转化^[24],在结直肠癌中miRNA-381通过直接靶向Twist-1发挥抑癌作用^[25]。在本研究中,miRNA-381可能通过特异性结合Twist-1 3'-UTR靶位点,降低Twist-1基因翻译水平,抑制胃癌细胞上皮间质转化,从而阻碍细胞转移和侵袭。

综上所述,miRNA-381通过抑制LRH-1和Twist-1蛋白的表达,调控细胞周期和上皮间质转化,进而抑制胃癌细胞增殖和侵袭。miRNA-381在胃癌中功能及其作用机制的鉴定,有望成为肿瘤早期诊断标志物及基因靶向治疗的新靶点。

参考文献

- [1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. International journal of cancer, 2015, 136(5): 359-386.
- [2] Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma[J]. Nature, 2014, 513(7517): 202-209.
- [3] Iorio M V, Ferracin M, Liu C G, et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer[J]. Cancer research, 2005, 65(16): 7065-7070.
- [4] CROCE C M. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer[J]. Nature reviews genetics, 2009, 10(10): 704-714.
- [5] OHSHIMA K, INOUE K, FUJIWARA A, et al. Let-7 microRNA family is selectively secreted into the extracellular environment via exosomes in a metastatic gastric cancer cell line[J]. PloS one, 2010, 5(10): e13247.
- [6] WANG H J, RUAN H J, HE X J, et al. MicroRNA-101 is down-regulated in gastric cancer and involved in cell migration and invasion[J]. European journal of cancer, 2010, 46(12): 2295-2303.
- [7] LAI K W, KOH K X, LOH M, et al. MicroRNA-130b regulates the tumour suppressor RUNX3 in gastric cancer[J]. European Journal of Cancer, 2010, 46(8): 1456-1463.
- [8] TANG H, LIU X, WANG Z, et al. Interaction of hsa-miR-381 and glioma suppressor LRR4 is involved in glioma growth[J]. Brain research, 2011, 1390: 21-32.
- [9] CHEN B, DUAN L, YIN G, et al. miR-381, a novel intrinsic WEE1 inhibitor, sensitizes renal cancer cells to 5-FU by up-regulation of Cdc2 activities in 786-O[J]. Journal of Chemotherapy, 2013, 25(4): 229-238.

- [10] MING J, ZHOU Y, DU J, et al. miR-381 suppresses C/EBP α -dependent Cx43 expression in breast cancer cells[J]. *Bioscience reports*, 2015, 35(6): e00266.
- [11] ZHANG G, ZHAO X, LI J, et al. Racial disparities in stage-specific gastric cancer: analysis of results from the Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) program database[J]. *Journal of Investigative Medicine*, 2017: jim-2017-000413.
- [12] ZHANG Y, WANG Z, CHEN M, et al. MicroRNA-143 targets MACC1 to inhibit cell invasion and migration in colorectal cancer[J]. *Molecular cancer*, 2012, 11(1): 23.
- [13] ZHANG Q, ZHAO S, PANG X, et al. MicroRNA-381 suppresses cell growth and invasion by targeting the liver receptor homolog-1 in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncology reports*, 2016, 35(3): 1831-1840.
- [14] LIANG Y, ZHAO Q, FAN L, et al. Down-regulation of MicroRNA-381 promotes cell proliferation and invasion in colon cancer through up-regulation of LRH-1[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2015, 75: 137-141.
- [15] FINN R S, CROWN J P, LANG I, et al. The cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitor palbociclib in combination with letrozole versus letrozole alone as first-line treatment of oestrogen receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (PALOMA-1/TRIO-18): a randomised phase 2 study[J]. *The lancet oncology*, 2015, 16(1): 25-35.
- [16] PARONETTO M P, CAPPELLARI M, BUSÀ R, et al. Alternative splicing of the cyclin D1 proto-oncogene is regulated by the RNA-binding protein Sam68[J]. *Cancer research*, 2010, 70(1): 229-239.
- [17] KEYOMARSI K, TUCKER S L, BUCHHOLZ T A, et al. Cyclin E and survival in patients with breast cancer[J]. *New England Journal of Medicine*, 2002, 347(20): 1566-1575.
- [18] WANG J, WANG Z, WANG H, et al. Curcumin induces apoptosis in ej bladder cancer cells via modulating c-myc and pi3k/akt signaling pathway[J]. *World Journal of Oncology*, 2011, 2(3): 113-122.
- [19] BENOD C, VINOGRADOVA M V, JOURAVEL N, et al. Nuclear receptor liver receptor homologue 1 (LRH-1) regulates pancreatic cancer cell growth and proliferation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(41): 16927-16931.
- [20] SCHOONJANS K, DUBUQUOY L, MEBIS J, et al. Liver receptor homolog 1 contributes to intestinal tumor formation through effects on cell cycle and inflammation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(6): 2058-2062.
- [21] RADISKY D C. Epithelial-mesenchymal transition[J]. *Journal of cell science*, 2005, 118(19): 4325-4326.
- [22] SUN T, ZHAO N, ZHAO X, et al. Expression and functional significance of Twist1 in hepatocellular carcinoma: its role in vasculogenic mimicry[J]. *Hepatology*, 2010, 51(2): 545-556.
- [23] NAIRISMÄGI M L, FÜCHTBAUER A, LABOURIAU R, et al. The proto-oncogene TWIST1 is regulated by microRNAs[J]. *PloS one*, 2013, 8(5): e66070.
- [24] DONG P, KANEUCHI M, WATARI H, et al. MicroRNA - 106b modulates epithelial-mesenchymal transition by targeting TWIST1 in invasive endometrial cancer cell lines[J]. *Molecular carcinogenesis*, 2014, 53(5): 349-359.
- [25] CHENG G Z, CHAN J, WANG Q, et al. Twist transcriptionally up-regulates AKT2 in breast cancer cells leading to increased migration, invasion, and resistance to paclitaxel[J]. *Cancer research*, 2007, 67(5): 1979-1987.

(王荣兵 编辑)