

微小RNA-320a和钠氢交换调控因子1在肝细胞癌中的表达及机制

丁兢, 段斌伟, 邸亮 (首都医科大学附属北京佑安医院 普外中心, 北京 100069)

摘要: 目的 探讨微小RNA (microRNA, miRNA)-320a和钠氢交换调控因子1 (Na^+/H^+ exchanger regulatory factor 1, NHERF1) 在肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 中的表达及机制。方法 收集首都医科大学附属北京佑安医院2015年1月至2016年1月经手术治疗的HCC患者肝癌组织及癌旁组织。采用反转录聚合酶链式反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 检测miR-320a和NHERF1在HCC组织、癌旁组织、HCC细胞株Bel-7402和正常肝细胞株HL-7702中的表达。将体外培养的Bel-7402细胞分为对照组、空白组和miR-320a转染组, 空白组中仅加入2 ml全培养基; 对照组加入2 ml空载体质粒; miR-320a组将稀释的miR-320a混合液加入到完全培养基中, 最终体积为2 ml; 采用RT-PCR检测Bel-7402细胞中miR-320a、NHERF1及 β -catenin的表达, 采用流式细胞术检测Bel-7402细胞的凋亡, 采用Transwell检测Bel-7402细胞迁移侵袭能力。结果 miR-320a (0.51 ± 0.01 vs 0.83 ± 0.02) 和NHERF1 (0.78 ± 0.02 vs 1.42 ± 0.05) 在肝癌组织中的表达均显著低于癌旁组织, 差异有统计学意义 (t 值分别为-80.25、-68.05, P 均 < 0.001)。miR-320a (0.75 ± 0.03 vs 0.81 ± 0.04) 和NHERF1 (0.79 ± 0.05 vs 1.58 ± 0.05) 在Bel-7402细胞中的相对表达量均显著低于HL-7702, 差异有统计学意义 ($t = -2.73$, $P = 0.021$, $t = -27.60$, $P < 0.001$)。对照组、空白组和miR-320a转染组在Bel-7402细胞中miR-320a相对表达量分别为 0.77 ± 0.04 、 0.79 ± 0.05 和 1.28 ± 0.07 , 差异有统计学意义 ($H = 11.66$, $P = 0.003$), miR-320a转染组显著高于对照组和空白组 (H 值分别为8.308、8.308, P 值分别为0.004、0.004)。对照组、空白组和miR-320a转染组Bel-7402细胞中NHERF1相对表达量分别为 0.82 ± 0.04 、 0.70 ± 0.04 和 1.46 ± 0.06 , 差异有统计学意义 ($H = 15.17$, $P = 0.001$), miR-320a转染组显著高于对照组和空白组 (H 值分别为8.337、8.308, P 值分别为0.004、0.004)。空白组、对照组和miR-320a转染组Bel-7402细胞凋亡率分别为11.2%、11.4%、32.5%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 9263.95$, $P < 0.001$)。其中miR-320a转染组显著高于空白组和对照组 (χ^2 值分别为7508.35、5100.96, P 均 < 0.001), 空白组和对照组间差异无统计学意义 ($\chi^2 = 1.024$, $P = 0.311$)。miR-320a组Bel-7402迁移能力显著降低。对照组、空白组和miR-320a转染组Bel-7402细胞中 β -catenin的相对表达量分别为 1.66 ± 0.07 、 1.62 ± 0.06 、 0.64 ± 0.02 , 差异有统计学意义 ($H = 12.117$, $P = 0.002$)。其中, miR-320a转染组显著低于空白组和对照组 (H 值分别为8.308、8.308, P 值分别为0.004、0.004), 空白组和对照组间差异无统计学意义 ($H = 1.641$, $P = 0.200$)。结论 miR-320a和NHERF1在HCC中表达降低, miR-320a可能通过Wnt信号转导通路发挥作用, 抑制癌细胞的增殖。

关键词: 肝细胞癌; 微小RNA-320a; 钠氢交换调控因子1; 表达; Wnt信号转导通路; 凋亡

Expression and mechanism of microRNA and Na^+/H^+ exchanger regulatory factor 1 on hepatocellular carcinoma

Ding Jing, Duan Binwei, Di Ling (Department of General Surgery, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and mechanism of microRNA (miRNA)-320a and Na^+/H^+ exchanger regulatory factor 1 (NHERF1) on hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** The liver cancer tissues and adjacent tissues of patients with HCC who were operated on in Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University from January 2015 to January 2016 were collected. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the expression of miR-320a and NHERF1 in HCC tissues, adjacent tissues, HCC cell line BEL-7402 and normal liver cell line HL-7702. BEL-7402 cells were divided into control group, blank group and miR-320a transfection group. The blank group was added with 2 ml

medium; the control group was added with 2 ml plasmid; the miR-320a transfection group was added with diluted miR-320a mixture into the medium, and the final volume was 2 ml. RT-PCR was used to detect the expression of miR-320a, NHERF1 and β -catenin in Bel-7402 cells, flow cytometry was used to detect the apoptosis of Bel-7402 cells, and Transwell was used to detect the migration ability of Bel-7402 cells.

Results The expression of miR-320a (0.51 ± 0.01 vs 0.83 ± 0.02) and NHERF1 (0.78 ± 0.02 vs 1.42 ± 0.05) in liver cancer tissues were significantly lower than those in adjacent tissues, the differences were statistically significant ($t = -80.25, -68.05; P < 0.001$). The expression of miR-320a (0.75 ± 0.03 vs 0.81 ± 0.04) and NHERF1 (0.79 ± 0.05 vs 1.58 ± 0.05) in Bel-7402 cells were significantly lower than those in HL-7702 cells, the differences were statistically significant ($t = -2.73, P = 0.021; t = -27.60, P < 0.001$). The expression of miR-320a in Bel-7402 cells in control group, blank group and miR-320a transfection group were $0.77 \pm 0.04, 0.79 \pm 0.05$ and 1.28 ± 0.07 , the difference was statistically significant ($H = 11.66, P = 0.003$). The expression of miR-320a in Bel-7402 cells in miR-320a transfection group was significantly higher than those in control group and blank group ($H = 8.308, 8.308; P = 0.004, 0.004$). The expression of NHERF1 in Bel-7402 cells in control group, blank group and miR-320a transfection group were $0.82 \pm 0.04, 0.70 \pm 0.04$ and 1.46 ± 0.06 , the difference was statistically significant ($H = 15.17, P = 0.001$). The expression of NHERF1 in Bel-7402 cells in miR-320a transfection group was significantly higher than those in control group and blank group ($H = 8.337, 8.308; P = 0.004, 0.004$). The apoptosis rate of Bel-7402 cells in control group, blank group and miR-320a transfection group were 11.2%, 11.4% and 32.5%, respectively, the difference was statistically significant ($\chi^2 = 9263.95, P < 0.001$). The apoptosis rate of Bel-7402 cells in miR-320a transfection group was significant higher than those in blank group and control group ($\chi^2 = 7508.35, 5100.96; \text{all } P < 0.001$). There was no significant difference between blank group and control group ($\chi^2 = 1.024, P = 0.311$). The migration ability of BEL-7402 cells reduced significantly. The relative expression of β -catenin in Bel-7402 cells in control group, blank group and miR-320a transfection group were $1.66 \pm 0.07, 1.62 \pm 0.06$ and 0.64 ± 0.02 , respectively, the difference was statistically significant ($H = 12.117, P = 0.002$). The relative expression of β -catenin in Bel-7402 cells in miR-320a transfection group was significant lower than those in blank group and control group, ($H = 8.308, 8.308; P = 0.004, 0.004$). There was no significant difference between blank group and control group ($H = 1.641, P = 0.200$). **Conclusions** The expression of miR-320a and NHERF1 decreased in HCC. MiR-320a may inhibit the proliferation of cancer cells by Wnt signal transduction pathways

Key words: Hepatocellular carcinoma; MicroRNA-320a; Na^+/H^+ exchanger regulatory factor 1; Expression; Wnt signaling transduction pathway; Apoptosis

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是我国常见的恶性肿瘤之一,占原发性肝癌的90%,具有恶性程度高、早期诊断率低、预后差及病死率高的特点^[1]。HCC的治疗手段多样,包括肝切除和肝移植手术治疗,经肝动脉栓塞治疗、靶向治疗、放射治疗和化学治疗等,其中靶向治疗的不良反应较小^[2]。近年来,肿瘤相关基因表达的变化在肿瘤的发生发展及转移中的作用已引起广泛重视。微小RNA(microRNA, miRNA)是存在于真核生物中的一类具有调控功能的小型非编码RNA,由20~25个核苷酸构成,研究表明miRNA是通过转录后水平调控基因的表达在生物过程中发挥作用的^[3]。miR-320a可影响多种恶性肿瘤的形成、进展和转移,因此受到越来越多的关注,其在不同组织中的表达存在显著差异,也在不同的恶性肿瘤中被提及,在胃癌、乳腺癌中表达下调^[4,5]。钠氢交换调控因子1(Na^+/H^+ exchanger regulatory factor 1, NHERF1),也称

为EBP50,是由358个氨基酸残基组成的蛋白质^[6]。研究表明,NHERF1在多种肿瘤细胞中表达异常,NHERF1在宫颈上皮细胞高表达,但在宫颈癌、直肠癌及乳腺癌等癌细胞中表达降低,并出现定位异常和入核现象,NHERF1高表达对癌细胞的增殖具有一定抑制作用^[7]。本研究拟探讨miR-320a和NHERF1在HCC中的表达及机制。

1 资料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 组织材料 2015年1月至2016年1月于首都医科大学附属北京佑安医院手术治疗的HCC患者共40例,其中男性25例,女性15例,收集手术切除的HCC组织和对应的癌旁组织(癌组织周围5 cm未受到侵袭的组织)。所有患者术前均未进行放射治疗和化学治疗,甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)阳性($> 7 \mu\text{g/L}$)。所有标本采集均告知患者,签署知情同意书,并通过首都医科大学附属北京佑安

医院伦理委员会备案。

1.1.2 细胞系 人HCC细胞株Bel-7402和正常肝细胞株HL-7702均购自北京北纳创联生物技术研究院。

1.1.3 试剂 主要试剂为RPMI 1640培养基(美国sigma公司), 0.25%胰蛋白酶消化液(美国Gibco公司), Trizol[®]RNA抽提试剂(美国ThermoFisher公司), cDNA合成试剂盒(美国Agilent Technologies公司), Annexin V-FITC/PI凋亡试剂盒(美国Abcam公司)。

1.2 方法

1.2.1 miR-320a和NHERF1在HCC组织、癌旁组织、Bel-7402细胞株和HL-7702细胞株中表达的检测 采用反转录聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)检测miR-320a和NHERF1在HCC组织、Bel-7402细胞株和HL-7702细胞株中的表达。手术切除的HCC组织和癌旁组织标本立即放入装有RNA保存液的容器中保存。正常肝细胞株HL-7702和HCC细胞株Bel-7402置于含有10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中, 于37℃、5%CO₂饱和湿度的条件下培养, 每24~48 h传代1次。收集生长对数期的HL-7702和Bel-7402细胞。参照相关文献^[8,9], 采用Trizol法分别提取肝组织和细胞株的总miRNA, 75%乙醇洗涤沉淀出miRNA后, 再用DEPC水溶解待用。在260 nm和280 nm处测得吸光度进行配平, 然后将RNA按照miRNA逆转录上样体系逆转录成cDNA, 逆转录后的cDNA置于-80℃冰箱保存备用。将逆转录的cDNA稀释后进行RT-PCR反应, 上下游引物各0.2 μmol/L, 设置95℃, 10 min 1个循环, 95℃, 10 s, 60℃, 20 s, 72℃, 15 s共40个循环。采用美国Bio-Rad公司荧光定量PCR仪测定。

1.2.2 过表达miR-320a对Bel-7402细胞的影响

1.2.2.1 分组与细胞培养 在6孔板中分别加入3 ml完全培养基, 其中Bel-7402细胞浓度控制在约50%, 培养过夜, 待细胞完全贴壁后, 将6孔板内的完全培养基吸出。实验分3组, 空白组、对照组和miR-320a转染组, 空白组为在常规培养的Bel-7402细胞中仅加入2 ml全培养基; 对照组加入2 ml空载体质粒; miR-320a组: 将稀释的miR-320a混合液加入到完全培养基中, 最终体积为2 ml。转染miR-320a的质粒购自上海生物工程有限公司合成。每组设6个复孔, 培养48 h后通过RT-PCR检测miR-320a和NHERF1及β-catenin的表达。

1.2.2.2 流式细胞术检测Bel-7402细胞凋亡 在培养48 h后分别收集各组细胞。用0.25%胰蛋白酶消化,

离心收集细胞, PBS清洗3遍, 用预冷的PBS将细胞重悬, 制成单细胞悬液。用双蒸水将Binding Buffer稀释5倍作为细胞重悬液, 重悬细胞浓度为 1×10^6 个/ml, 每个样品管中加入100 μl细胞悬液。检测操作参照细胞凋亡检测试剂盒说明书, 染色30 min后使用流式细胞仪检测, 采用Cell Quest软件分析数据。

1.2.2.3 Transwell检测Bel-7402细胞迁移侵袭能力 生长48 h后收集各组细胞, 在细胞培养小室中, 以 1×10^5 /L每孔的密度在小室上端接种, 加入200 μl无血清培养基; 在小室下端加入300 μl含10%胎牛血清的培养基, 不超过小室上端, 每组设3个复孔; 培养24 h后, 收集细胞, PBS洗3次, 采用多聚甲醛固定细胞30 min, 结晶紫染色30 min, 于光学显微镜下观察并拍照记录。

1.3 统计学处理 采用SPSS 19.0软件进行数据分析, miR-320a和NHERF1在HCC组织、癌旁组织、Bel-7402和HL-7702中的相对表达量等计量资料符合正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验。对照组、空白组和miR-320a转染组中miR-320a和NHERF1和β-catenin符合正态分布, 但方差不齐, 采用Kruskal-Wallis秩和检验。Bel-7402细胞凋亡率为计数资料, 以百分数表示, 采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, 秩和检验多组数据的校正 $P = 0.017$ 。

2 结果

2.1 miR-320a和NHERF1在HCC组织和癌旁组织中的表达 miR-320a和NHERF1在HCC组织中的表达均显著低于癌旁组织(t 值分别为-80.25、-68.05, P 均 < 0.001), 见表1。

2.2 miR-320a和NHERF1在Bel-7402和HL-7702中的表达 miR-320a和NHERF1在Bel-7402中的相对表达量均显著低于HL-7702($t = -2.73$, $P = 0.021$, $t = -27.60$, $P < 0.001$), 见表2。

2.3 各组Bel-7402细胞中miR-320a和NHERF1的表达 对照组、空白组和miR-320a转染组Bel-7402细胞中miR-320a相对表达量差异有统计学意义($H =$

表1 miR-320a和NHERF1在HCC组织及癌旁组织中的相对表达量($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-320a	NHERF1
HCC组织	0.51 ± 0.01	0.78 ± 0.02
癌旁组织	0.83 ± 0.02	1.42 ± 0.05
t 值	-80.25	-68.05
P 值	< 0.001	< 0.001

11.66, $P = 0.003$), miR-320a转染组显著高于对照组和空白组(H 值分别为8.308、8.308, P 值分别为0.004、0.004), 对照组和空白组间差异无统计学意义($H = 0.641$, $P = 0.423$)。3组Bel-7402细胞中NHERF1相对表达量差异有统计学意义($H = 15.17$, $P = 0.001$), 见表3。

2.4 各组Bel-7402细胞凋亡率 空白组、对照组和miR-320a转染组Bel-7402细胞凋亡率分别为11.2%、11.4%、32.5%, 差异有统计学意义($\chi^2 = 9263.95$, $P < 0.001$)。其中miR-320a转染组显著高于空白组和对照组(χ^2 值分别为7508.35、5100.96, P 均 < 0.001), 空白组和对照组间差异无统计学意义($\chi^2 = 1.024$, $P = 0.311$), 见图1。

2.5 各组Bel-7402的迁移能力 光学显微镜下, miR-320a组每个视野内结晶紫染色的Bel-7402细胞的数目显著少于对照组和空白组, Bel-7402细胞迁移能力显著降低, 空白组和对照组间无显著差异, 见图2。

表2 miR-320a和NHERF1在Bel-7402和HL-7702中的相对表达量($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-320a	NHERF1
Bel-7402	0.75 ± 0.03	0.79 ± 0.05
HL-7702	0.81 ± 0.04	1.58 ± 0.05
t 值	-2.73	-27.60
P 值	0.021	< 0.001

2.6 各组Bel-7402细胞中 β -catenin的相对表达量 对照组、空白组和miR-320a转染组Bel-7402细胞中 β -catenin的相对表达量分别为 1.66 ± 0.07 、 1.62 ± 0.06 、 0.64 ± 0.02 , 差异有统计学意义($H = 12.117$, $P = 0.002$)。其中, miR-320a转染组显著低于空白组和对照组(H 值分别为8.308、8.308, P 值分别为0.004、0.004), 空白组和对照组间差异无统计学意义($H = 1.641$, $P = 0.200$)。

表3 对照组、空白组和miR-320a转染组Bel-7402细胞中miR-320a和NHERF1的相对表达量($\bar{x} \pm s$)

分组	miR-320a	NHERF1
对照组	0.77 ± 0.04	0.82 ± 0.04
空白组	0.79 ± 0.05	0.70 ± 0.04
miR-320a转染组	1.28 ± 0.07	1.46 ± 0.06
H 值	11.66	15.17
P 值	0.003	0.001
H_1 值	0.641	8.337
P_1 值	0.423	0.004
H_2 值	8.308	8.337
P_2 值	0.004	0.004
H_3 值	8.308	8.308
P_3 值	0.004	0.004

注: H_1 、 P_1 为对照组与空白组相比, H_2 、 P_2 为对照组与miR-320a转染组相比, H_3 、 P_3 为空白组与miR-320a组相比

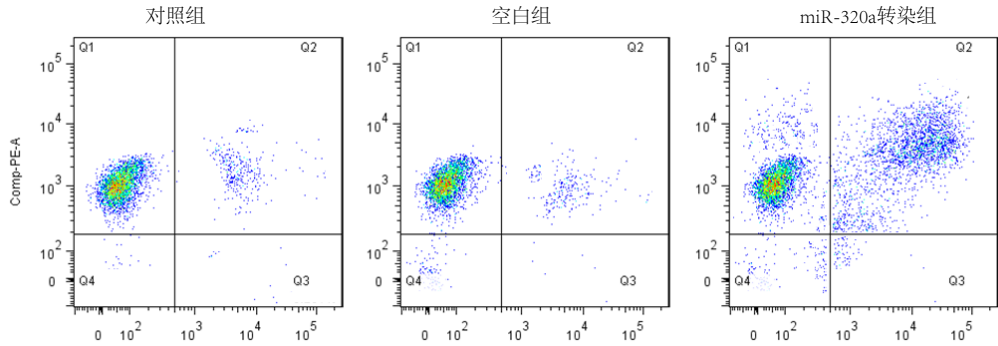


图1 空白组、对照组和miR-320a转染组Bel-7402细胞凋亡的流式细胞图

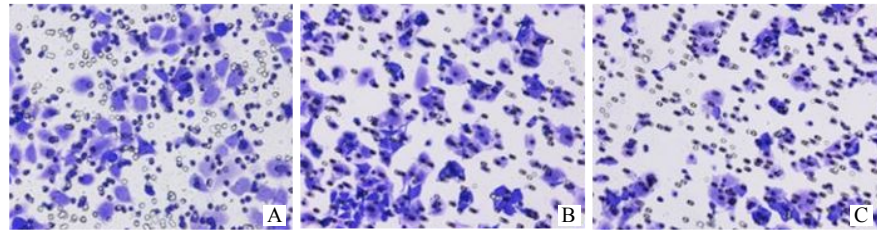


图2 空白组、对照组和miR-320a转染组Bel-7402细胞的迁移情况(结晶紫染色, $\times 200$)

注: A为对照组, B为空白组, C为miR-320a转染组

3 讨论

miRNA是一类细胞内源性的非编码小RNA,在人体组织中广泛表达,常见的作用机制为通过负性调节靶基因的表达参与多种细胞过程的调控^[10]。肿瘤中的miRNA大都存在表达异常,发挥促癌或抑癌作用。miR-320家族成员包括miR-320b、miR-320c、miR-320d和miR-320e,定位于人染色体8p21.3^[11]。在正常上皮细胞中,NHERF1通常定位在细胞膜上,而在过表达NHERF1的肿瘤细胞中,则异位至胞浆或胞核^[12]。研究表明,NHERF1在肿瘤组织的胞质、细胞核及外周循环血液淋巴细胞中表达增多,提示NHERF1在肿瘤中发挥了作用,可作为肿瘤的生物标志物,为肿瘤诊断提供了新线索,也为肿瘤诊断及治疗提供了新的研究方向^[13]。现有研究表明,NHERF1具有调节细胞增殖的潜在功能,在乳腺癌细胞和结直肠癌细胞中NHERF1表达下调,正常情况下的结直肠上皮细胞中NHERF1位于细胞膜上,随着肿瘤的进展,NHERF1定位由细胞膜逐渐向胞浆及胞核中转移^[14,15]。本研究中,在HCC组织和HCC细胞中均检测到miR-320a和NHERF1表达下降,与上述研究结果相符。miR-320a和NHERF1表达水平降低,其抑癌作用减弱或消失,从而促进了肿瘤的发生和发展。在细胞实验中,通过转染增加miR-320a表达后,NHERF1表达也有所升高,提示miR-320a与NHERF1存在一定联系。

细胞凋亡是细胞的程序性死亡,在细胞的自我更新中发挥重要作用。癌细胞的细胞活性高,转移和侵袭能力强是其易扩散的原因,因此促进癌细胞本身的凋亡和抑制迁移能力也是治疗癌症的有效途径之一^[16]。高表达的miR-320a具有抑制细胞增殖和诱导凋亡的作用,同时肿瘤细胞的侵袭和迁移功能也受到抑制^[17]。在乳腺癌和结直肠癌中,miR-320a参与肿瘤发生发展的过程可能与同时伴随的NHERF1转位具有相关性。肿瘤细胞中NHERF1由胞膜转至胞浆甚至胞核可能由细胞内多种蛋白质相互作用共同激活,影响和参与肿瘤增殖、侵袭和迁移相关信号转导通路的调控,但这一过程并未完全明确,有待进一步研究^[18,19]。本研究中,HCC细胞转染miR-320a质粒后,miR-320a呈高表达状态,相应的细胞凋亡率显著增加,且细胞迁移能力受到了抑制,提示miR-320a可促进细胞凋亡并抑制细胞迁移,对于以miR-320a为靶基因实现对癌细胞的抑制作用提供了可行性。

Wnt/ β -catenin信号转导通路的主要组成部分包括Wnt蛋白及其膜受体、 β -catenin及其下游靶基

因。Wnt/ β -catenin信号转导通路参与多种基因的表达,对细胞增殖具有调控作用^[20,21]。研究表明,miR-320a可通过Wnt/ β -catenin信号转导通路抑制人类乳腺癌细胞的增殖,相关研究已确定乳腺癌中miR-320a的下游靶基因即为 β -catenin,但具体调控机制尚未完全明确^[22]。NHERF1表达水平与细胞增殖和Wnt信号转导通路的激活程度相关^[23]。体内及体外实验证实NHERF1可通过抑制Wnt/ β -catenin信号转导通路的激活来抑制宫颈癌细胞的增殖、侵袭及迁移^[24]。肝细胞癌中NHERF1的mRNA相对表达量升高,免疫组织化学进一步分析发现NHERF1在细胞膜上的表达减少,在胞质及胞核中增多,此定位变化过程中NHERF1可能通过与 β -catenin相互作用,激活Wnt信号转导通路,促进了癌细胞的增殖^[6]。本研究中,考虑 β -catenin蛋白是Wnt信号转导通路的标志蛋白,通过RT-PCR检测 β -catenin编码基因可了解miR-320a对Wnt信号转导通路的影响;结果表明高表达的miR-320可抑制 β -catenin的表达,提示Wnt信号转导通路受到抑制,推测miR-320a对HCC增殖的抑制作用是通过抑制和降低Wnt信号转导通路活性实现的。

综上,miR-320a和NHERF1在HCC中表达降低,miR-320a可通过Wnt信号转导通路发挥作用,抑制癌细胞增殖。

参考文献

- [1] 肖静,杨元好,刘文毅,等. microRNA-218在肝细胞癌中的表达及功能研究[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(22):3148-3150.
- [2] 张为家,苏小岩,李爽,等. 肝动脉介入栓塞化疗联合陀螺刀放疗治疗不能手术原发性肝癌108例的疗效分析[J]. 安徽医药,2019,23(6):1191-1194.
- [3] 赵锦燕,尚海霞,曾建伟,等. 微小RNA在肝癌耐药Bel-7402/5-FU细胞中的表达分析[J]. 实用中西医结合临床,2019,19(9):3-6.
- [4] LIEB V, WEIGELT K, SCHEINOST L, et al. Serum levels of miR-320 family members are associated with clinical parameters and diagnosis in prostate cancer patients[J]. Oncotarget,2017,9(12):10402-10416.
- [5] 余俊,李晓兰,张青冬. 上皮性卵巢癌组织miR-320a表达对SKOV3细胞增殖和侵袭性影响[J]. 中华肿瘤防治杂志,2019,26(14):1026-1030,1035.
- [6] BHATTACHARYA S, STANLEY C B, HELLER W T, et al. Dynamic structure of the full-length scaffolding protein NHERF1 influences signaling complex assembly[J]. J Biol Chem,2019,294(29):11297-11310.
- [7] 孙浩,宋然,谢萍,等. TRAF6对乳腺癌细胞中NHERF1蛋白稳定性影响的研究[J]. 医学分子生物学杂志,2018,15(5):261-267.
- [8] 余细兵,陈玉冰,兰超智,等. 丝氨酸-苏氨酸激酶受体相关蛋白在肝细胞癌组织的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志,2019,36(10):1735-1737.
- [9] 杨颖,李志鹏,贾春丽,等. 薏苡仁注射液提高人肝癌细胞Bel-7402放射敏感性的机制研究[J]. 中华放射医学与防护杂志

- 志,2017,37(12):885-890.
- [10] 李可, 林进, 吴丹. 环状RNA在肿瘤中的表达与功能[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2019,35(3):259-266.
- [11] YONG S, YABIN Y, BING Z, et al. Reciprocal regulation of DGCR5 and miR-320a affects the cellular malignant phenotype and 5-FU response in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017,8(53):90868-90878.
- [12] MANGIA A, SCARPI E, PARTIPILO G, et al. NHERF1 together with PARP1 and BRCA1 expression as a new potential biomarker to stratify breast cancer patients[J]. *Oncotarget*,2017,8(39):65730-65742.
- [13] YANG F, GU Y, ZHAO Z, et al. NHERF1 suppresses lung cancer cell migration by regulation of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Anticancer Res*,2017,37(8):4405-4414.
- [14] 马剑锋, 张艳彩, 孙慧. 下调SRGN基因表达对乳腺癌细胞凋亡及JAK/STAT信号通路的影响[J]. 癌症进展,2018,16(6):698-701.
- [15] 李阳, 李洋, 程杉, 等. 乳腺癌组织中NHERF1、PTEN和ER α 蛋白的表达及其临床意义[J]. 首都医科大学学报,2012,33(6):788-792.
- [16] ZHANG D, LI K, SUN C, et al. Anti-cancer effects of paris polyphylla ethanol extract by inducing cancer cell apoptosis and cycle arrest in prostate cancer cells[J]. *Curr Urol*,2018,11(3):144-150.
- [17] 吕晓婷, 熊伟, 宋丹, 等. MiR-320a在肝癌中的表达及对SMMC-7721肝癌细胞凋亡和迁移的影响[J]. 基因组学与应用生物学,2018,37(5):2305-2311.
- [18] GEORGESCU M M, OLAR A, MOBLEY B C, et al. Epithelial differentiation with microlumen formation in meningioma: diagnostic utility of NHERF1/EBP50 immunohistochemistry[J]. *Oncotarget*,2018,9(47):28652-28665.
- [19] 卢文秀, 焦阳, 崔存玮, 等. 钠/氢交换调节因子1是结直肠癌临床预后的预测因子[J]. 基础医学与临床,2019,39(7):967-972.
- [20] 程协枝, 黄斐超, 陈江田. 二氢丹参酮调控Wnt/ β -catenin信号通路抑制大肠癌细胞增殖的研究[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35(15):1633-1635.
- [21] 王瑞峰, 张昊驹, 戴宜武, 等. R-脊椎蛋白3对小鼠神经干细胞增殖及Wnt/ β -catenin通路的影响[J]. 中华神经医学杂志,2018,17(4):344-348.
- [22] YOSHIDA T, SOPKO N A, KATES M, et al. Three-dimensional organoid culture reveals involvement of Wnt/ β -catenin pathway in proliferation of bladder cancer cells[J]. *Oncotarget*,2018,9(13):11060-11070.
- [23] SCHIROSI L, MAZZOTTA A, OPINTO G, et al. β -catenin interaction with NHERF1 and RASSF1A methylation in metastatic colorectal cancer patients[J]. *Oncotarget*,2016,7(42):67841-67850.
- [24] KIJIMA H, SAWADA T, TOMOSUGI N, et al. Expression of hepcidin mRNA is uniformly suppressed in hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Cancer*,2008,8:167.

收稿日期: 2020-03-16

丁兢, 段斌炜, 邱亮. 微小RNA-320a和钠氢交换调控因子1在肝细胞癌中的表达及机制[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2020,12(3):59-64.